

Abschlussbericht

zum Entscheidungshilfe-Verbundforschungsvorhaben „Auswirkungen von Glyphosat auf aus Tierhaltungen stammende Bakterien“ (Akronym: Glypho-Bak)

Ausführende Stelle: Lehrstuhl für Tierernährung, Technische Universität München

Förderkennzeichen: 2815HS017

Vorhabensbezeichnung: Teilvorhaben 3

Laufzeit des Vorhabens: 01.01.2016 bis 30.06.2019 (verlängert gemäß Bescheid vom 18.12.2018)

Berichtszeitraum: 01.01.2016 bis 30.06.2019

Projektpartner im Forschungsverbund:

- Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Institut für Tier- und Umwelthygiene (FU-ITU)
- Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Physiologisches Institut (TiHo-PI)
- Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Lehrstuhl für Tierernährung (TUM-LT)
- Universität Leipzig, Fakultät für Biowissenschaften, Pharmazie und Psychologie, Institut für Biochemie (UL-IB)

Freising, den 20.08.2019

Prof. Dr. Wilhelm Windisch

1 Ziele im Berichtszeitraum gemäß Arbeitsplan

Task 1.2: Umfassende Literaturrecherche zum Stand der Wissenschaft

Die Literaturrecherche erfolgte nach Absprache mit dem Projektträger BLE in Form eines gemeinsamen Review-Artikels, der zeitnah publiziert werden soll.

Task 6.2: *in-vivo* Untersuchungen an Rindern

Der Kern dieses Tasks bestand aus einem 5-monatigen Stoffwechselfersuch an neun trockenstehenden Kühen, die mit Pansenfisteln und Duodenalkanülen versehen waren. Die Tiere wurden nach dem Prinzip eines 3x3 *split-plot*-Designs über drei Versuchsperioden hinweg drei verschiedenen Behandlungen unterzogen (Kontrolle mit Glyphosat-freiem Futter, Zulage von 100 mg Glyphosat pro Tier und Tag als Reinsubstanz bzw. als kommerzielle Formulierung „RoundUp“) unterzogen. Die Tiere wurden individuell gehalten und restriktiv gefüttert.

Der Tierversuch wurde im Jahre 2017 plangemäß durchgeführt. Die Beprobungen und Messungen umfassten Endpunkte der ruminalen Fermentation, Flüsse an Rohnährstoffen und Mineralstoffen am Duodenum, die scheinbaren Verdaulichkeiten von Rohnährstoffen und Mineralstoffen auf Basis der Kotalausscheidungen, die aus den Aufnahmen über das Futter und die fäkalen sowie renalen Exkretionen ermittelten Mineralstoffbilanzen, sowie Mineralstoffgehalte im Blut. Mit diesen Analysen sollte geprüft werden, ob die Behandlung mit Glyphosat einen erkennbaren Einfluss auf die Verdauungsvorgänge bei Rindern ausübt. Ein besonderes Augenmerk lag dabei auf der Dynamik des ruminalen Abbaus des Futterproteins, denn eine mögliche Beeinflussung durch Glyphosat hätte Rückwirkungen auf die Bereitstellung von unabgebautem Futterprotein (UDP) am Duodenum und damit auf die Proteinversorgung des Tieres insgesamt.

Die umfangreiche Beprobung umfasste auch Material, das gemäß Arbeitsplan an die Projektpartner zur weiteren Analytik weitergegeben wurde.

Task 9: Aufklärung einer möglichen Chelatbildung durch Glyphosat

Glyphosat wird als möglicher Chelatbildner für Mineralstoffe diskutiert und könnte demnach den Stoffwechsel der Mineralstoffe beeinflussen. Aufgrund der Molekülstruktur des Glyphosats betrifft dies nur die kationischen Mineralstoffe, insbesondere solche mit relativ hoher Ladungsdichte und besonderer Neigung zur Chelatbildung, beispielsweise Zink, Kupfer, Eisen und Mangan. Der Vollständigkeit halber wurden jedoch alle quantitativ relevanten kationischen Mengen- und Spurenelemente untersucht (Ca, Mg, Na, K, Zn, Cu, Fe, Mn).

Die Wirkung von Glyphosat als Chelatbildner könnte potenziell von einer Beeinträchtigung der Absorbierbarkeit (Bildung unlöslicher Komplexe mit Glyphosat) bis zu einer verstärkten Absorption unter Umgehung der homöostatischen Regulation reichen. Diese Fragestellung lässt sich über die quantitative Betrachtung der Mineralstoff-Flüsse durch den Verdauungstrakt entlang der Messpunkte am Duodenum, der Ausscheidung über den Kot, sowie renalen Exkretion als Spiegelbild einer Verschiebung der Absorption aus dem Verdauungstrakt untersuchen. Zusätzliche Detailbilder liefern die Betrachtungen der Mineralstoff-Verteilungen in Unterfraktionen des Pansensafts und des Duodenalchymus.

Task 10: Untersuchung des Einflusses von Glyphosat auf die ruminale Proteinsynthese

Eine Änderung des Spektrums und der Aktivität der ruminalen Mikrobiota infolge einer Behandlung mit Glyphosat könnte sich auch auf die Proteinversorgung des Wiederkäuers im Sinne der im Dünndarm zur Verdauung bereitstehenden Aminosäuren auswirken („nutzbares Rohprotein am Duodenum“). Die beiden relevanten Zielgrößen sind der Abfluss von pansenstabilem Rohprotein aus den Vormägen in das Duodenum (UDP) (siehe Messungen unter Task 6.2) sowie die Anflutung von Mikrobenprotein am Duodenum. Letzteres lässt sich im Duodenalchymus über Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) bestimmen.

2 Material und Methoden

2.1 Tierhaltung und Fütterung

Das Tierversuchsvorhaben wurde bei der zuständigen Behörde der Regierung von Oberbayern angemeldet und unter der Nummer AZ 55.2-1-54-2532-116-2016 genehmigt. Die Durchführung des Tierversuchs erfolgte am Lehrstuhl für Tierernährung der Technischen Universität München in der Versuchstierhaltung „Baumgarten“ (Obere Dorfstr. 9, 85405 Nandlstadt OT Baumgarten, Balisnr. 09 178 124 0475) in der Zeit vom 22. Mai bis 02. Oktober 2017.

Es standen 9 trockenstehende Milchkühe der Rasse Holstein-Friesian mit einer mittleren Lebendmasse von 650 kg zur Verfügung. Alle Tiere waren mit einer Pansenfistel und einer T-Kanüle am Duodenum ausgestattet. Die Tiere wurden einzeln in Anbindehaltung auf Gummimatten untergebracht, was eine individuelle Fütterung sowie die verlustfreie Sammlung etwaiger Futterreste und der kompletten Kotalausscheidungen ermöglichte. Darüber hinaus wurde an den Tieren vorübergehend eine Vorrichtung zur verlustfreien Sammlung der Harnausscheidungen angebracht. Hierzu wurden um die Vaginalregion der Tiere mittels medizinischer Hautkleber dreimal für jeweils 8 Tage Klettverschlüsse angebracht, an denen Schlauchleitungen zur Sammlung des Harns fixiert wurden.

Die Tiere erhielten über den gesamten Versuch hinweg ein einheitliches Futter aus Grassilage, Maissilage und einer Kraftfuttermischung bestehend aus Weizenschrot, Sojakuchen und einem kommerziellen, vitaminisierten Mineralfutter (Tabelle 1). In das Mineralfutter wurde als Marker für Flussraten an Nährstoffen durch den Pansen bzw. am Duodenum 0,92% Titandioxid (TiO_2) beigemischt. Die Tiere erhielten täglich eine abgewogene Ration von exakt 6,5 kg Trockenmasse, jeweils aufgeteilt in zwei Halbtagesportionen (morgens 07:00 Uhr; nachmittags 16:00 Uhr). Wasser stand über Selbsttränken ad libitum zur Verfügung.

Die verwendeten Futtermittel Maissilage, Grassilage und Weizen stammten von landwirtschaftlichen Betrieben, die kein Glyphosat verwenden. Sojakuchen und das Mineralfutter wurden aus dem Handel mit Biofuttermitteln bezogen. Sämtliche Futterkomponenten wurden vor ihrer Verfütterung auf ihre Konzentrationen an Glyphosat und dessen Abbauprodukt AMPA (Aminomethylphosphonsäure) untersucht (Analyse durch Wessling GmbH, 48341 Altenberge). In keinem Fall konnte eine die Nachweisgrenze (0,01 mg/kg organische Substanz) übersteigende Konzentration an Glyphosat bzw. AMPA detektiert werden.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Futtermischung

Futterkomponenten (% in der Trockenmasse (TM) der Gesamtration)	
Maissilage	49,2
Grassilage	40,0
Kraftfuttermischung:	
Weizenschrot	5,0
Sojakuchen	5,0
vitaminiertes Mineralfutter ¹⁾	0,8
Titandioxid (TiO ₂)	0,1
Analysierte Gehalte an Nährstoffen	
Rohasche (% in der TM)	6,9
Rohprotein (% in der TM)	14,8
Gesamtfett (% in der TM)	3,7
Rohfaser (% in der TM)	19,5
Hemicellulose (% in der TM)	24,2
Cellulose (% in der TM)	12,9
Lignin (% in der TM)	7,4
Ca (g/kg)	82,5
Mg (g/kg)	28,5
Na (g/kg)	41,4
K (g/kg)	11,6
Zn (mg/kg)	74,3
Cu (mg/kg)	19,4
Mn (mg/kg)	39,8
Fe (mg/kg)	545,6

¹⁾ Inhaltsstoffe laut Hersteller: Ca 22,0%; Na 9,0%; P 2,0%; Mg 4,0%. Futtermittelzusatzstoffe je kg Mineralfutter: Vit. A 750.000 I.E.; Vit D3 75.000 I.E. Vit E (Tocopherylacetat) 1.500mg; Cu(II)Sulfat-Pentahydrat 1.150mg; Zinksulfat-Monohydrat 750mg; ZnO 6.250mg; Mn(II)Oxid 2.250mg; Calcoim-
lodat, wasserfrei 120mg; Kobalt(II)Carbonat 30mg; Natriumselenit 30mg.

2.2 Behandlung, statistisches Design und Probenplan

Der Tierversuch umfasste drei verschiedene Behandlungen:

- 1) „Kontrolle“: Ausschließliche Fütterung der in Tabelle 1 genannten Futterration.
- 2) „Glyphosat“: Zulage von 100 mg reinem Glyphosat pro Tier und Tag zum Futter in Form von Isopropylammonium-Glyphosat-Salz (CAS 38641-94-0; Chemos GmbH, Deutschland; Gehalt an reinem Glyphosat 753 g/kg). Es wurde eine wässrige Lösung mit einer Glyphosatkonzentration von 5 g/L hergestellt und davon jeweils 10 ml über die Kraftfuttermischung der beiden Halbtagesportionen an die Tiere verabreicht.
- 3) „RoundUp“: Zulage von 100 mg reinem Glyphosat pro Tier und Tag zum Futter in Form eines handelsüblichen Herbizids mit Isopropylammonium-Glyphosat als Wirkstoff (Roundup LB Plus, CelaFlor, Deutschland; Gehalt an reinem Glyphosat 411 g/L). Es wurde eine wässrige Lösung mit einer Glyphosatkonzentration von 5 g/L hergestellt und davon jeweils 10 ml über die Kraftfuttermischung der beiden Halbtagesportionen an die Tiere verabreicht.

Die drei Behandlungen wurden auf die neun Versuchstiere nach dem Prinzip eines *split-plot-designs* mit drei jeweils 7wöchigen Versuchsperioden verteilt. Hierbei waren in jeder Versuchsperiode alle drei Behandlungen mit jeweils drei Tieren vertreten. Von einer Versuchsperiode zur nächsten wurde die Zuteilung der Tiere zu den Behandlungen gewechselt, so dass jedes Tier über die drei Versuchsperioden hinweg jede Behandlung genau einmal durchlief.

Die 7wöchigen Versuchsperioden begannen mit einer 2wöchigen *wash-out*-Phase, in der alle Tiere die Glyphosat-freie Kontrollration erhielten (Tag 1 bis 14). Anschließend (Tag 15 bis 49) erhielten die Tiere die ihnen jeweils zugeteilte Futterbehandlung.

Zwischen Tag 36 und 43 wurde der ruminale Abbau der Futtermittel (Maissilage, Grassilage, Weizenschrot, Sojakuchen, sowie die gesamten Mischration) nach der *in-sacco*-Methode bestimmt. Hierzu wurde circa genau 4 g getrocknetes und auf 3mm vermahlendes Futtermaterial in 10 x 20 cm große Nylonbeutel (Bardiamond, Parma, USA) mit einer Porengröße von 50 µm in vierfacher Wiederholung pro Futtertyp eingewogen und im ventralen Pansensack für eine Zeitdauer von 0h, 1,5h, 3h, 6h, 9h, 12h, 24h bzw. 48h nach der Morgenfütterung inkubiert. Unmittelbar nach der Entnahme wurde die mikrobielle Aktivität in Eiswasser gestoppt, die Beutel gewaschen und sofort bei 50°C vorgetrocknet. Die Einwaage „0h“ diente als Startpunkt des Abbaus. Sie wurde zwar nicht im Pansen inkubiert, danach aber wie die inkubierten Proben weiterbehandelt.

Am Tag 38 wurde unmittelbar vor der Morgenfütterung (0h) sowie im weiteren Zeitabstand von 1,5h, 3h, 4,5h, 6h und 9h (d.h. unmittelbar vor der Abendfütterung um 16:00 Uhr) über die Pansenfistel aus dem ventralen Pansen ca. 500 ml Pansensaft entnommen, sofort der pH-Wert gemessen und 100 ml ohne weitere Behandlung bei -20°C aufbewahrt. Der restliche Pansensaft wurde zentrifugiert und ein Teil des Überstands zur späteren Analyse von Ammoniak-N entnommen und bei -20°C aufbewahrt. Zu einem anderen Teil des Überstands wurde Metaphosphorsäure und Ameisensäure zugegeben, erneut zentrifugiert und der Überstand zur Bestimmung von flüchtigen Fettsäuren und von Milchsäure bei -20°C aufbewahrt.

Ab Tag 43 wurde beginnend mit der Morgenfütterung über 5 Tage hinweg von jedem Tier alle 4 Stunden jeweils 150 g Duodenalchymus entnommen, tageweise gepoolt und bei -20°C gelagert.

Ebenso ab Tag 43 wurden beginnend mit der Morgenfütterung 7 Tage lang von jedem Tier die Ausscheidungen an Kot und Harn täglich vollständig gesammelt und aus einem Aliquot von 10% (Kot) bzw. 5% (Harn) der jeweiligen Tagesmenge ein Wochenpool erstellt und tiefgefroren aufbewahrt. Zur Vermeidung von gasförmigen N-Verlusten wurde in die Sammelbehälter des Harns eine Säurevorlage von 250 ml 10n Schwefelsäure gegeben.

Die Ziehung von Blutproben erfolgte aus der vena jugularis unmittelbar nach Ende der *wash-out*-Periode (Tag 15, unmittelbar vor der Morgenfütterung) sowie am Ende einer Versuchsperiode (Tag 47) unmittelbar vor der Morgenfütterung (0h) sowie nach 1,5h, 3h, 6h und 9h. Hierbei wurde sowohl Blutserum gewonnen als auch Blutplasma mittels Heparin bzw. K-EDTA und bei -80°C gelagert.

Am Tag 15 sowie am Tag 49 wurden unmittelbar von der Morgenfütterung durch den bestandsbetreuenden Tierarzt Leberbiopsien entnommen, in Kryotubes unter 1,5 ml RNAlater schockgefroren (flüssiger Stickstoff) und bei -80°C gelagert.

2.3 Probenaufbereitung und Analytik

a) Futter

Die Futterproben wurden nach der Weender Analyse auf die Gehalte an Trockenmasse (TM), Rohasche (XA), Rohprotein (XP) ($N \cdot 6,25$, Kjeldahl), Gesamtfett (TL), Rohfaser (XF) sowie nach der Detergentienanalyse auf NDF, ADF und ADL zur Bestimmung der Gehalte an Hemicellulose, Cellulose und Lignin analysiert (Naumann und Bassler 1976, 2012). Die Organische Substanz (OS) wurde aus der Differenz von (TM – XA) berechnet und die N-freien Extraktstoffe (NfE) aus der Differenz von (OS – XP – XL – XF).

Zur Analyse der kationischen Mengen- und Spurenelemente wurde das Material in einem geschlossenen Mikrowellensystem unter HNO_3 und H_2O_2 mineralisiert und die Gehalte an Mineralstoffen je nach erwarteten Konzentrationen an einem Massenspektrometer (ICP-MS) oder einem Atomabsorptionsspektrometer (AAS) gemessen. Die Bestimmung der Konzentrationen an TiO_2 im Futter erfolgte photometrisch nach Brandt und Allam (1987).

b) Nylonbeutel (in sacco-Methode)

In den vorgetrockneten Nylonbeuteln wurden die verbliebene Menge an Trockenmasse (Gefriertrocknung) bzw. an Rohprotein ($N \cdot 6,25$, Kjeldahl-Analyse) bestimmt, um den Verlust gegenüber der ursprünglichen Einwaage zu ermitteln. Die weiteren Berechnungen der Abbaukinetik des Futtermaterials (lösliche, fermentierbare, abbaubare Fraktion, Abbaurate, Lag-time, effektive Abbauraten) erfolgte nach McDonald (1981).

c) Pansensaft

Die Konzentrationen an Ammoniak-N und an Milchsäure (D und L-Milchsäure) im zentrifugierten Pansensaft wurden photometrisch mittels kommerzieller Kits gemessen. Die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren (Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Iso-Buttersäure, Valeriansäure, sowie Iso-Valeriansäure) erfolgte gaschromatographisch.

Zur Fraktionierung des Pansensafts und Messung der Konzentrationen an kationischen Mengen- und Spurenelemente wurden die zu den Zeitpunkten 0h, 1,5h, 3h, 6h und 9h gewonnenen Proben zu einer Sammelprobe vereint und in einer Kühlzentrifuge mit 20.000 g zentrifugiert. Das Sediment wurde entnommen und mittels Gefriertrocknung die gewonnene Menge an Trockenmasse ermittelt. Das Sediment sowie eine Probe des Überstands wurde in einem geschlossenen Mikrowellensystem unter HNO_3 und H_2O_2 mineralisiert und die Gehalte an kationischen Mengen- und Spurenelementen (Ca, Mg, K, Zn, Cu, Fe, Mn) an einem Massenspektrometer (ICP-MS) und die Gehalte an Na an einem AAS gemessen.

d) Duodenalchymus

In der dritten Versuchsperiode konnte aus technischen Gründen von einem Tier kein Duodenalchymus gewonnen werden (Tier Nr. 8, Behandlung „RoundUp“).

Die 5 Tagesproben an Duodenalchymus pro Tier und Versuchsperiode wurden halbiert und zu zwei Sammelproben vereint. Eine Sammelprobe wurde gefriergetrocknet und wie die Futterproben auf Trockenmasse, Roh Nährstoffe, kationischen Mineralstoffen und TiO_2 analysiert. Zusätzlich wurde der Anteil des Mikrobenproteins im Duodenalchymus nach der Methode von Lebzién und Paul (1997) über Nahinfrarotspektroskopie bestimmt.

Aus der im Duodenalchymus gemessenen Menge des inerten Markers TiO_2 in Relation zum täglichen Verzehr an TiO_2 über das Futter wurde auf den täglichen Gesamtfluss an Duodenalchymus geschlossen. Die Bilanzierung der am Duodenum geflossenen Mengen an Nährstoffen gegenüber der jeweiligen Aufnahme über das Futter ergab deren scheinbare Verschwindensrate entlang der Passage durch die Vormägen bis zum Duodenum.

Die zweite Hälfte der Chymusproben wurde in Anlehnung an Choi et al. (2002) durch fortgesetzte Auftrennung in vier Fraktionen separiert:

- (1) Grobe Partikel durch Siebung mit haushaltsüblichem Sieb (7 Löcher/cm). Dies sind hauptsächlich Futterpartikel.
- (2) Feine Partikel durch Sedimentierung des Filtrats von (1) mittels Zentrifugation bei 1000g für 4 Minuten.
- (3) Mikroorganismen im Überstand von (2) durch Sedimentierung mittels Zentrifugation bei 20.000g für 30 Minuten.
- (4) Flüssige Phase des Überstands von (3).

Die Ausbeute an Trockenmasse der gesiebten bzw. sedimentierten Feststoffe wurde durch Gefriertrocknung ermittelt. Anschließend wurden die drei festen Fraktionen sowie die flüssige Fraktion wie beim Pansensaft beschrieben auf die Konzentrationen an kationischen Mengen- und Spurenelementen analysiert. Die Konzentrationen an Mineralstoffen im gesamten Chymus wurde durch Aufsummierung der Beiträge der vier Fraktionen ermittelt. Darüber hinaus wurde der prozentuale Anteil des Beitrags der Mineralstoffe einer Fraktion zur Konzentration des gesamten Chymus berechnet.

e) Kotproben

Die über 7 Sammeltage gepoolten Kotproben wurden gefriergetrocknet und – wie bei Futter und Duodenalchymus bereits beschrieben – die Konzentrationen an Trockenmasse, Roh Nährstoffen, sowie kationischen Mengen- und Spurenelementen analysiert. Aus dem Vergleich der Aufnahme über das Futter und der Exkretion über den Kot wurde die scheinbare Verdaulichkeit von Trockenmasse, Roh Nährstoffen und Mineralstoffen bestimmt („total tract digestibility“).

f) Harnproben

Bei den Harnproben sollten hauptsächlich die Mineralstoffe analysiert werden. Der Aufschluss des aufgetauten Harns über geschlossene Mikrowellensysteme ergab jedoch erhebliche Mengen an Niederschlägen unbekannter Zusammensetzung in der Aufschluss-lösung und war deshalb ungeeignet. Aus diesem Grunde wurde 200 g Harn in offenen Plastiktüten für 4 Tage bei 90°C getrocknet, davon 2 g in Platinschalen eingewogen, bei 480 °C für 48 Stunden im Muffelofen verascht und die Asche in 6n Salzsäure (HCl) unter Hitze aufgenommen, in eine wässrige Lösung überführt und am AAS bzw. ICP-MS auf die Gehalte an kationischen Mengen- und Spurenelementen analysiert.

g) Blutplasma proben

Es wurden 3 Serien von Blutplasma proben analysiert: die Plasma proben von Ende der *wash-out*-Phase (Probenahme unmittelbar vor der Morgenfütterung), sowie Proben vom Ende der 5wöchigen unterschiedlichen Behandlung, und zwar unmittelbar vor der Morgenfütterung bzw. 3 Stunden danach. Die Plasma proben wurde wie für Futter, Chymus und Kot beschrieben in einem geschlossenen Mikrowellensystem unter HNO₃ und H₂O₂ mineralisiert und die Gehalte an kationischen Mengen- und Spurenelementen an einem Massen-spektrometer (ICP-MS) oder einem Atomabsorptionsspektrometer (AAS) gemessen.

2.4 Statistik

Die Daten wurden einer Varianzanalyse mit den fixen Faktoren „Behandlung“ (3 Stufen: Kontrolle, Glyphosat, RoundUp), „Versuchsperiode“ (drei Stufen: Periode 1, 2, bzw. 3), sowie „Tier“ (9 Stufen: Tier 1, 2, 3, ..., 9) unterzogen.

Die nachfolgenden Tabellen zeigen die Mittelwerte der drei Behandlungsgruppen, SEM („standard error of means“ als einschlägige Größe für statistische Mittelwertvergleiche) sowie den p-Wert des Faktors „Behandlung“ als Indikator für einen statistisch sicheren Effekt der Behandlung. Als Signifikanzschwelle wurde $p < 0,05$ festgesetzt.

3 Ergebnisse

3.1 Kennzahlen der Pansenfermentation

a) Fermentationsendpunkte im Pansensaft

Die Tabellen 2a bis 2c zeigen den Verlauf des pH-Werts im Pansensaft sowie der Konzentrationen an Ammoniak und Fettsäuren nach der Morgenfütterung. Die Verlaufsmuster sind durchwegs typisch für praktische Wiederkäuerrationen (z.B. vorübergehender Abfall des pH-Werts bzw. Anstieg von Ammoniak und Fettsäuren im Zeitraum von etwa 1 bis 4 Stunden nach der Fütterung). Zu keinem Zeitpunkt war ein statistisch relevanter Unterschied zwischen den drei Behandlungsgruppen erkennbar.

Tabelle 2a: Verlauf der Fermentationsendpunkte im Pansensaft über 9 Stunden nach der Morgenfütterung: pH-Wert, Ammoniak-N, Essigsäure

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
pH-Wert, Stunden nach Fütterung					
0	7,06	7,02	7,07	0,05	0,759
1,5	6,64	6,62	6,67	0,05	0,815
3	6,62	6,59	6,71	0,06	0,291
4,5	6,60	6,56	6,72	0,06	0,136
6	6,72	6,68	6,78	0,04	0,138
7,5	6,72	6,78	6,79	0,06	0,624
9	6,88	6,82	6,88	0,06	0,628
Ammoniak-N (mg/L), Stunden nach Fütterung					
0	69,3	62,4	64,6	4,23	0,476
1,5	202,2	202,7	203,2	8,83	0,996
3	194,4	194,9	196,7	11,90	0,989
4,5	105,6	104,2	105,5	16,99	0,998
6	47,8	52,1	58,8	10,96	0,752
7,5	34,4	39,5	40,0	6,00	0,741
9	33,9	32,1	34,2	4,85	0,940
Essigsäure (mmol/L), Stunden nach Fütterung					
0	45,6	44,8	46,2	1,51	0,773
1,5	57,3	56,5	56,4	2,19	0,945
3	60,5	58,1	62,2	2,37	0,449
4,5	60,2	56,4	61,0	3,00	0,479
6	55,3	53,5	55,8	2,24	0,717
7,5	48,8	51,7	53,7	2,41	0,338
9	50,7	51,0	50,4	2,10	0,975

Tabelle 2b: Verlauf der Fermentationsendpunkte im Pansensaft über 9 Stunden nach der Morgenfütterung: Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Summe an flüchtigen Fettsäuren

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Propionsäure (mmol/L), Stunden nach Fütterung					
0	9,9	9,4	9,9	0,57	0,760
1,5	19,4	19,6	18,1	0,82	0,366
3	17,0	15,6	16,8	1,04	0,544
4,5	14,9	13,4	14,9	1,10	0,515
6	12,9	12,0	12,8	0,76	0,623
7,5	11,0	11,2	12,2	0,86	0,546
9	11,3	10,8	10,9	0,73	0,870
Buttersäure (mmol/L) Stunden nach Fütterung					
0	6,3	6,3	6,7	0,42	0,721
1,5	9,5	9,6	9,4	0,61	0,981
3	11,2	10,7	11,3	0,63	0,707
4,5	10,7	10,1	10,7	0,96	0,828
6	9,4	9,5	9,7	0,59	0,940
7,5	8,2	8,9	9,2	0,77	0,614
9	8,2	8,3	8,2	0,67	0,992
Valeriansäure (mmol/L), Stunden nach Fütterung					
0	1,7	1,7	1,9	0,13	0,489
1,5	3,2	3,2	3,3	0,16	0,961
3	4,7	4,7	4,9	0,19	0,497
4,5	3,9	3,7	4,0	0,27	0,655
6	3,1	3,1	3,2	0,15	0,813
7,5	2,4	2,6	2,7	0,17	0,264
9	2,3	2,3	2,3	0,13	0,965
Summe flüchtige Fettsäuren (mmol/L), Stunden nach Fütterung					
0	63,5	62,2	64,8	2,41	0,729
1,5	89,4	89,0	87,2	3,54	0,888
3	93,4	89,1	95,3	3,79	0,467
4,5	89,7	83,5	90,6	5,00	0,522
6	80,8	78,0	81,5	3,37	0,721
7,5	70,4	74,4	77,8	3,97	0,390
9	72,5	72,4	71,7	3,36	0,983

Tabelle 2c: Verlauf der Fermentationsendpunkte im Pansensaft über 9 Stunden nach der Morgenfütterung: Relation von Essig- zu Propionsäure, Milchsäure

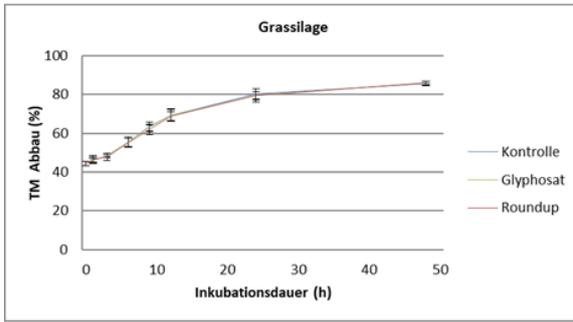
	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Relation Acetat zu Propionat, Stunden nach Fütterung					
0	4,79	4,80	4,71	0,19	0,935
1,5	2,97	2,90	3,11	0,07	0,079
3	3,63	3,73	3,76	0,15	0,817
4,5	4,12	4,21	4,20	0,18	0,905
6	4,35	4,47	4,44	0,17	0,873
7,5	4,54	4,63	4,56	0,18	0,926
9	4,61	4,75	4,74	0,17	0,782
Milchsäure (mmol/L) Stunden nach Fütterung					
0	0,47	0,41	0,42	0,06	0,722
1,5	4,24	3,15	3,77	1,57	0,872
3	0,39	0,94	0,42	0,31	0,342
4,5	0,45	0,44	0,36	0,05	0,378
6	0,37	0,39	0,38	0,05	0,976
7,5	0,42	0,37	0,31	0,05	0,202
9	0,37	0,31	0,27	0,05	0,363

a) Abbaukinetik des Futters im Pansen (in sacco-Methode)

Bei der *in-sacco*-Methode werden definierte Futtermengen im Pansen inkubiert und die nach unterschiedlich langen Zeiten verbleibenden Futterreste zurückgewogen. Aus der Verschwindensrate an Trockenmasse bzw. inkubierten Nährstoffen kann auf die Kinetik des Abbaus geschlossen werden.

Wie in Abbildung 1 gezeigt, verlief der ruminale Abbau der Trockenmasse und des Rohproteins der eingesetzten Futtermittel bzw. der gesamten Mischration typisch für die jeweiligen Komponenten (rascher und nahezu vollständiger Abbau bei Weizen und Soja, langsamer und unvollständiger Abbau bei den faserreichen Futterkomponenten Mais- und Grassilage). Die Verlaufskurven der einzelnen Behandlungen waren in allen Fällen nahezu deckungsgleich. Innerhalb der einzelnen Inkubationszeiten ergab sich in keinem Fall ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen.

Abbau der Trockenmasse



Abbau des Rohproteins

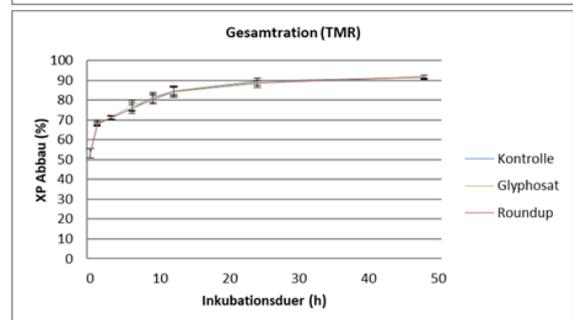
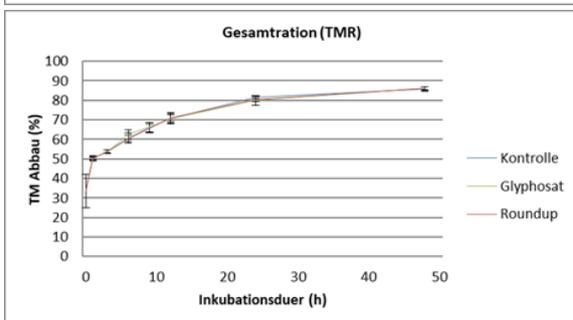
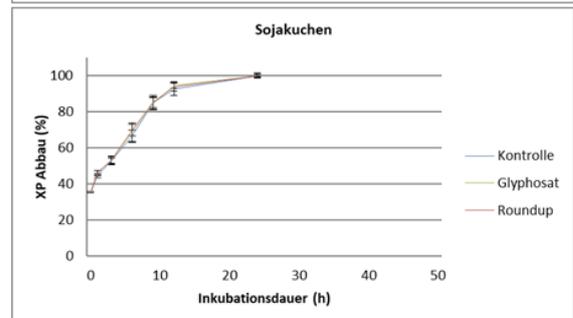
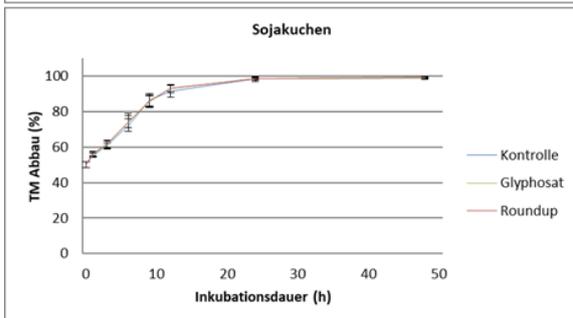
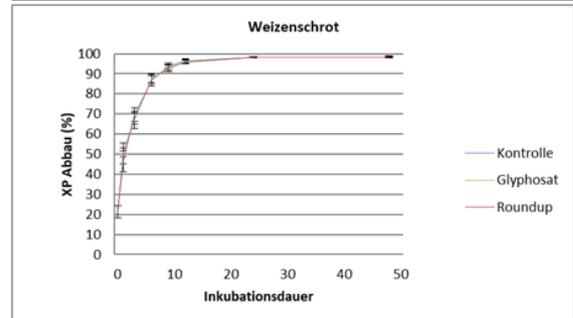
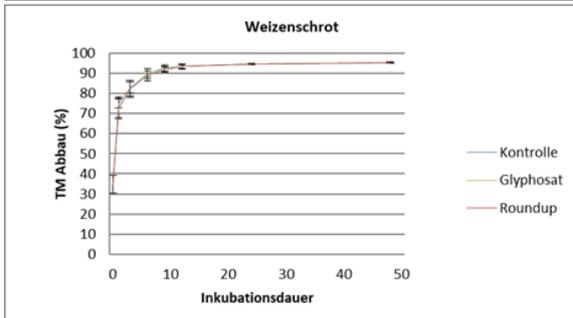
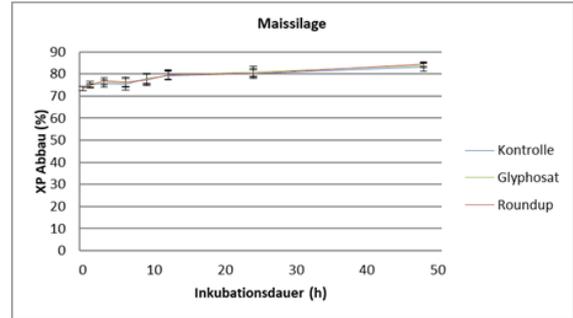
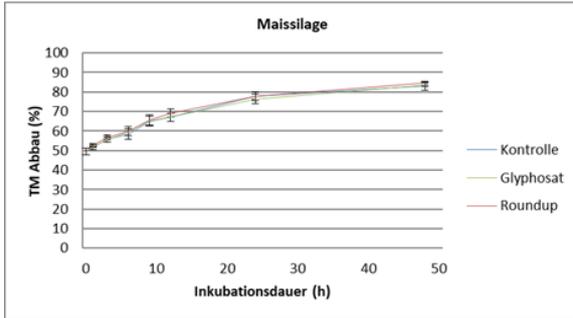
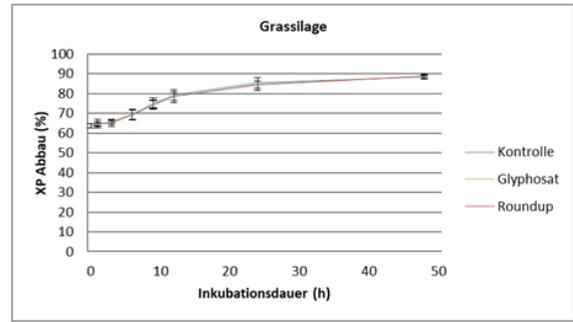


Abbildung 1: Zeitverlauf des ruminalen Abbaus der Trockenmasse (links) bzw. des Rohproteins (rechts) der eingesetzten Futtermittel (Grassilage, Maissilage, Weizenschrot, Sojakuchen) sowie der Gesamtration (TMR)

Die individuellen Verlaufskurven des Abbaus von Trockenmasse bzw. Rohproteins der einzelnen Futtermittel wurden einer nicht-linearen Regressionsanalyse unterzogen (McDonald 1981). Hieraus wurden die löslichen Anteile im Futtermittel geschätzt, die unlöslichen aber ruminal fermentierbaren Anteile, der insgesamt abbaubare Anteil, die Abbaurate c und die Verzögerungszeit (lag-time, t_0).

Tabelle 3a zeigt die entsprechenden Kenndaten des Abbaus der Trockenmasse im Vergleich der drei Behandlungen. In allen Fällen lagen die Kenndaten sehr nahe beieinander und es konnte bei keinem der getesteten Futtermittel ein Einfluss der Behandlung aufgezeigt werden.

Lediglich bei der Gesamtration (TMR) war der Anteil an insgesamt abbaubarer Trockenmasse bei Behandlung mit reinem Glyphosat reduziert ($p < 0,02$). Der Unterschied war jedoch quantitativ bedeutungslos (84% vs. 85%). Dieser Effekt scheint ein statistisches Artefakt zu sein, denn die Schätzung der einzelnen Parameter war bei der Gesamtration vergleichsweise instabil und lieferte für die Ableitung der Verzögerungszeit keine statistisch auswertbaren Daten.

Aus den Kenndaten des Abbaus an Trockenmasse leitet sich die sogenannte effektive Abbaurate ab (McDonald 1981). Hierbei wird eine gewisse Passagerate des Futters durch die Vormägen unterstellt, so dass der tatsächlich erzielte Abbau geringer ist, als der in Tabelle 3a dargestellte Anteil an insgesamt abbaubarer Trockenmasse theoretisch vorgibt. Die Passageraten zwischen 2, 5 bzw. 8 % pro Stunde spiegeln eine niedrige, mittlere bzw. hohe Fütterungsintensität wider. Wie Tabelle 3b zeigt, lagen die Werte der drei Behandlungen für alle Futtermittel und unterstellten Passageraten sehr nahe beieinander und wiesen in keinem Fall eine statistisch sicherbare Differenz auf.

Tabelle 4a und 4b zeigt die entsprechenden Kenndaten des Abbaus an Rohprotein in den Futtermitteln und der Gesamtration sowie die daraus ermittelten effektiven Abbauraten bei Unterstellung von ruminalen Passageraten von 2, 5, bzw. 8% pro Stunde. Auch beim Abbau des Rohproteins lagen die jeweiligen Werte der drei Behandlungsgruppen sehr nahe beieinander und wiesen keine statistisch sicherbaren Unterschiede auf. Es ist demnach davon auszugehen, dass Glyphosat in den hier eingesetzten Dosierungen die Bereitstellung von UDP am Duodenum nicht verändert.

Tabelle 3a: Kenndaten des ruminalen Abbaus der Trockenmasse von Grassilage, Maissilage, Weizenschrot, Sojakuchen und Gesamtration: löslicher Anteil, unlöslicher aber ruminal abbaubarer Anteil, insgesamt abbaubarer Anteil, Abbaukonstante, Lag-Time (Verzögerungszeit) (Berechnung siehe Fußnote)

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Grassilage					
lösliche TM [%]	42,80	42,87	42,92	0,20	0,40
unlösliche, abbaubare TM [%]	45,40	45,56	46,20	0,32	0,16
insgesamt abbaubare TM [%]	88,20	88,42	89,13	0,35	0,15
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,0698	0,0686	0,0649	0,0029	0,45
Lag-time [h]	0,50	0,50	0,50	-	-
Maissilage					
lösliche TM [%]	35,34	35,36	35,36	0,13	0,70
unlösliche, abbaubare TM [%]	57,99	58,05	57,55	0,67	0,39
insgesamt abbaubare TM [%]	93,33	93,40	92,91	0,70	0,82
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,6334	0,6718	0,6964	0,0039	0,82
Lag-time [h]	0,00	0,06	0,00	0,07	0,14
Weizenschrot					
lösliche TM [%]	48,40	48,67	48,87	0,09	0,98
unlösliche, abbaubare TM [%]	52,01	51,92	51,64	0,19	0,13
insgesamt abbaubare TM [%]	100,41	100,59	100,51	0,18	0,13
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,1348	0,1385	0,1413	0,042	0,54
Lag-time [h]	0,50	0,50	0,50	0,034	0,39
Sojakuchen					
lösliche TM [%]	38,16	38,14	38,39	0,18	0,32
unlösliche, abbaubare TM [%]	47,01	46,03	46,79	0,25	0,51
insgesamt abbaubare TM [%]	85,17	84,17	85,17	0,17	0,75
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,1097	0,1174	0,1079	0,0038	0,46
Lag-time [h]	0,00	0,00	0,00	0,013	0,39
Gesamtration (TMR)					
lösliche TM [%]	38,16	38,14	38,39	0,18	0,52
unlösliche, abbaubare TM [%]	47,01	46,03	46,79	0,29	0,06
insgesamt abbaubare TM [%]	85,17	84,17	85,17	0,26	0,02
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,1097	0,1174	0,1079	0,0033	0,10
Lag-time [h]	0,00	0,00	0,00	-	-

Abbaurrate [% TM] = $a + b \cdot (1 - e^{-c \cdot (t - t_0)})$ mit a = lösliche TM [%]; b = unlösliche, aber ruminal abbaubare TM [%]; c = Konstante des Abbaus [h⁻¹]; t = Inkubationsdauer [h]; t₀ = Lag-time [h] (Verzögerungszeit bis zum Beginn der ruminalen Fermentation). (McDonald 1981)

Insgesamt abbaubarer Anteil = löslicher Anteil + unlöslich aber fermentierbarer Anteil

Tabelle 3b: Kenndaten des ruminalen Abbaus der Trockenmasse von Grassilage, Maissilage, Weizenschrot, Sojakuchen und Gesamtration: effektive Abbaurrate bei unterschiedlicher Passagerate (Berechnungen siehe Fußnote)

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Grassilage					
bei Passagerate von 2 % TM/h	77,70	77,67	77,75	0,27	0,98
bei Passagerate von 5 % TM/h	68,56	68,44	68,23	0,37	0,79
bei Passagerate von 8 % TM/h	63,09	62,97	62,69	0,35	0,68
Maissilage					
bei Passagerate von 2 % TM/h	76,37	76,44	77,14	0,26	0,07
bei Passagerate von 5 % TM/h	68,87	68,88	69,44	0,30	0,29
bei Passagerate von 8 % TM/h	64,59	64,62	65,10	0,32	0,44
Weizenschrot					
bei Passagerate von 2 % TM/h	91,47	91,58	91,28	0,15	0,31
bei Passagerate von 5 % TM/h	88,89	89,08	89,00	0,20	0,74
bei Passagerate von 8 % TM/h	86,54	86,79	86,90	0,28	0,63
Sojakuchen					
bei Passagerate von 2 % TM/h	93,07	93,40	93,49	0,19	0,28
bei Passagerate von 5 % TM/h	85,32	85,76	85,95	0,27	0,25
bei Passagerate von 8 % TM/h	79,67	80,17	80,42	0,32	0,24
Gesamtration (TMR)					
bei Passagerate von 2 % TM/h	77,89	77,42	77,77	0,23	0,30
bei Passagerate von 5 % TM/h	70,41	70,36	70,24	0,25	0,88
bei Passagerate von 8 % TM/h	65,30	65,45	65,15	0,26	0,68

Effektive Abbaurrate [% TM] = $a + b \cdot [(b \cdot c) / (c + k)] \cdot e^{-(k \cdot t_0)}$ mit a = lösliche TM [%]; b = unlösliche, aber ruminal abbaubare TM [%]; c = Konstante des Abbaus [h^{-1}]; k = unterstellte Passagerate der TM [%/h] (hier 2 bzw. 5 bzw. 8 %/h); t_0 = Lag-time [h] (Verzögerungszeit bis zum Beginn der ruminalen Fermentation). (McDonald 1981)

Tabelle 4a: Kenndaten des ruminalen Abbaus des Rohproteins in Grassilage, Maissilage, Weizenschrot, Sojakuchen und Gesamtration: löslicher Anteil, unlöslicher aber ruminal abbaubarer Anteil, insgesamt abbaubarer Anteil, Abbaukonstante, Lag-Time (Verzögerungszeit) (Berechnung siehe Fußnote)

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Grassilage					
lösliches XP [%]	62,16	62,98	63,06	0,11	0,27
unlösliches, abbaubares XP [%]	26,41	26,64	26,80	0,52	0,84
insgesamt abbaubares XP [%]	89,76	90,24	90,21	0,57	0,78
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,0807	0,0764	0,0735	0,0064	0,71
Lag-time [h]	1,59	1,67	1,60	0,19	0,90
Maissilage					
lösliches XP [%]	72,46	73,31	73,34	0,27	0,58
unlösliches, abbaubares XP [%]	9,50	10,67	10,15	0,63	0,40
insgesamt abbaubares XP [%]	83,47	84,53	84,37	0,77	0,56
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,0826	0,0736	0,0734	0,0100	0,78
Lag-time [h]	0,47	0,19	0,00	0,20	0,25
Weizenschrot					
lösliches XP [%]	21,31	21,31	21,31	0,33	0,46
unlösliches, abbaubares XP [%]	76,15	75,78	75,79	0,53	0,84
insgesamt abbaubares XP [%]	97,67	97,62	97,85	0,33	0,85
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,4055	0,3938	0,3752	0,0397	0,85
Lag-time [h]	0,47	0,32	0,25	0,13	0,43
Sojakuchen					
lösliches XP [%]	31,98	32,92	32,69	0,26	0,65
unlösliches, abbaubares XP [%]	66,14	65,92	65,83	0,26	0,65
insgesamt abbaubares XP [%]	100,00	100,00	100,00	-	-
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,1543	0,1598	0,1621	0,0043	0,40
Lag-time [h]	0,50	0,46	0,47	0,0268	0,50
Gesamtration (TMR)					
lösliches XP [%]	55,43	55,08	55,55	0,26	0,73
unlösliches, abbaubares XP [%]	33,90	33,42	33,52	0,27	0,40
insgesamt abbaubares XP [%]	90,13	89,68	90,01	0,27	0,45
Abbau-Konstante [h ⁻¹]	0,1668	0,1788	0,1602	0,0072	0,18
Lag-time [h]	0,00	0,00	0,00	-	-

Abbaurrate [% XP] = $a + b \cdot (1 - e^{-c \cdot (t - t_0)})$ mit a = lösliches XP [%]; b = unlösliches, aber ruminal abbaubares XP [%]; c = Konstante des Abbaus [h⁻¹]; t = Inkubationsdauer [h]; t₀ = Lag-time [h] (Verzögerungszeit bis zum Beginn der ruminalen Fermentation). (McDonald 1981).

Insgesamt abbaubarer Anteil = löslicher Anteil + unlöslicher, aber fermentierbarer Anteil

Tabelle 4b: Kenndaten des ruminalen Abbaus des Rohproteins in Grassilage, Maissilage, Weizenschrot, Sojakuchen und Gesamtration: effektive Abbauraten bei unterschiedlicher Passagerate (Berechnungen siehe Fußnote)

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Grassilage					
bei Passagerate von 2 % TM/h	83,67	83,65	83,56	0,32	0,96
bei Passagerate von 5 % TM/h	78,19	78,00	77,87	0,32	0,73
bei Passagerate von 8 % TM/h	74,83	74,62	74,50	0,27	0,65
Maissilage					
bei Passagerate von 2 % TM/h	81,31	81,84	81,93	0,46	0,57
bei Passagerate von 5 % TM/h	79,49	79,75	79,98	0,35	0,59
bei Passagerate von 8 % TM/h	78,40	78,55	78,84	0,31	0,57
Weizenschrot					
bei Passagerate von 2 % TM/h	93,19	93,15	93,30	0,30	0,93
bei Passagerate von 5 % TM/h	87,30	87,33	87,39	0,61	0,99
bei Passagerate von 8 % TM/h	82,21	82,35	82,34	0,88	0,99
Sojakuchen					
bei Passagerate von 2 % TM/h	91,77	92,08	92,16	0,21	0,35
bei Passagerate von 5 % TM/h	82,49	83,07	83,23	0,37	0,32
bei Passagerate von 8 % TM/h	75,62	76,33	76,54	0,45	0,30
Gesamtration (TMR)					
bei Passagerate von 2 % TM/h	86,48	86,26	86,24	0,20	0,62
bei Passagerate von 5 % TM/h	82,28	82,28	81,97	0,20	0,42
bei Passagerate von 8 % TM/h	79,11	79,24	78,77	0,22	0,28

Effektive Abbauraten [% XP] = $a + b \cdot [(b \cdot c) / (c + k)] \cdot e^{-(k \cdot t_0)}$ mit a = lösliches XP [%]; b = unlösliches, aber ruminal abbaubares XP [%]; c = Konstante des Abbaus [h^{-1}]; k = unterstellte Passagerate der TM [%/h] (hier 2 bzw. 5 bzw. 8 %/h); t_0 = Lag-time [h] (Verzögerungszeit bis zum Beginn der ruminalen Fermentation). (McDonald 1981)

b) Kationische Mengen- und Spurenelemente im Pansensaft, Fraktionierung

Die Ultrazentrifugation des Pansensafts lieferte eine flüssige Phase und ein festes Sediment. Letzteres besteht im Wesentlichen aus den Mikroorganismen und sehr kleinen Futterpartikeln. Sollte Glyphosat das ruminale Mikrobewachstum beeinflussen und/oder als Chelator möglicherweise die Verfügbarkeit der kationischen Mengen- und Spurenelemente ändern, könnte sich dies in der Menge des Sediments und/oder den Metall-Konzentrationen in den beiden Phasen bzw. den Relationen zueinander bemerkbar machen. Wie die nachfolgende Tabelle 5 zeigt, ließ sich diesbezüglich jedoch kein statistisch nachweisbarer Effekt aufzeigen.

Tabelle 5: Konzentrationen an kationischen Mengen- und Spurenelementen im Pansensaft und seinen Fraktionen (flüssige Phase, Sediment), Verteilung der Elemente in den Fraktionen sowie Menge an sedimentierbarem Material im Pansensaft

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Gesamter Pansensaft					
Ca [mg/L]	278	297	255	26	0,52
Mg [mg/L]	90,6	98,5	91,2	6,0	0,56
Na [mg/L]	2805	2876	2790	57	0,50
K [mg/L]	656	639	695	25	0,27
Zn [mg/L]	2,49	2,55	2,17	0,32	0,64
Cu [mg/L]	0,634	0,644	0,568	0,068	0,66
Fe [mg/L]	20,7	21,8	18,6	2,5	0,63
Mn [mg/L]	1,30	1,36	1,21	0,13	0,67
Flüssige Phase					
Ca [mg/L]	57,4	64,8	65,8	3,7	0,22
Mg [mg/L]	32,3	36,7	39,1	2,9	0,25
Na [mg/L]	2622	2694	2623	58	0,58
K [mg/L]	600	584	644	24,7	0,20
Zn [mg/L]	0,151	0,146	0,193	0,025	0,34
Cu [mg/L]	0,0813	0,0873	0,1017	0,0106	0,36
Fe [mg/L]	2,62	2,68	2,90	0,16	0,41
Mn [mg/L]	0,205	0,242	0,254	0,020	0,20
Sedimentierbare Partikel					
Masse an Partikeln [mg TM/L]	14,9	14,4	12,9	1,2	0,48
Ca [g/kg TM]	14,5	15,5	14,3	0,6	0,38
Mg [g/kg TM]	4,03	4,33	4,02	0,13	0,18
Na [g/kg TM]	15,6	16,0	15,9	0,41	0,74
K [g/kg TM]	4,30	4,44	4,39	0,19	0,85
Zn [mg/kg TM]	154	155	151	6	0,84
Cu [mg/kg TM]	36,3	36,2	35,5	1,1	0,85
Fe [mg/kg TM]	1198	1250	1183	69	0,76
Mn [mg/kg TM]	73,5	74,5	73,8	2,2	0,95
Beitrag der flüssigen Phase zur Gesamtkonzentration					
Ca [% an Ca total]	23,2	25,2	27,2	2,1	0,40
Mg [% an Mg total]	36,4	39,3	43,8	3,4	0,28
Na [% an Na total]	92,2	92,4	92,8	0,45	0,55
K [% an K total]	90,4	90,4	91,5	0,6	0,27
Zn [% an Zn total]	7,83	7,41	9,44	0,9	0,23
Cu [% an Cu total]	15,6	17,2	19,5	1,6	0,23
Fe [% an Fe total]	14,9	14,8	17,4	1,4	0,29
Mn [% an Mn total]	16,9	19,6	21,9	2,0	0,19

3.2 Flüsse an Nährstoffen durch den Verdauungstrakt

Die Tiere verzehrten das vorgelegte Futter (6,5 kg TM pro Tier und Tag) stets restlos.

Die Tabellen 6a und 6b zeigen die Konzentrationen an Nährstoffen im Duodenalchymus, die Flussraten am Duodenum, die ruminalen Verschwindensraten und die jeweiligen Verdaulichkeiten über den gesamten Verdauungstrakt. In nahezu allen Fällen lagen die Werte der drei Behandlungsgruppen sehr nahe beieinander und wiesen keine statistisch sicherbaren Unterschiede auf.

Auch die Konzentrationen an Mikrobenprotein im Duodenum und die entsprechenden Flussraten zeigen keine Unterschiede zwischen den Behandlungen.

Tabelle 6a: Flüsse an Nährstoffen durch den Verdauungstrakt: Konzentrationen an Nährstoffen im Duodenalchymus, tägliche Flussraten am Duodenum

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Rohnährstoffe im Duodenalchymus (% in der TM)					
XA	24,98	25,67	26,47	1,00	0,25
OS	75,02	74,33	73,53	1,00	0,25
XP, gesamt	25,44	25,38	25,35	0,50	0,98
Mikrobenprotein	14,2	14,4	14,4	0,43	0,69
TL	9,34	8,90	8,97	0,37	0,33
NfE	30,64	30,63	30,27	1,38	0,89
XF	9,61	9,43	8,94	0,47	0,26
Hemicellulose	10,90	10,61	10,04	0,68	0,58
Cellulose	4,25	4,00	3,14	1,61	0,58
Lignin	8,20	8,27	8,42	1,05	0,95
Tägliche Flussraten am Duodenum (g/Tag)					
TM	3626	3745	3746	121	0,40
XA	904	964	992	56	0,19
OS	2722	2782	2754	88	0,71
XP, gesamt	924	951	951	25	0,56
Mikrobenprotein	517	542	541	28	0,43
TL	338	332	335	35	0,90
NfE	1113	1145	1134	57	0,78
XF	348	354	335	22	0,59
Hemicellulose	396	394	375	30	0,90
Cellulose	155	146	117	55	0,59
Lignin	298	313	317	43	0,84

Die negative Verschwindensraten bei der Rohasche sind Ausdruck der umfangreichen endogenen Zuflüsse von Mineralstoffen über den Speichel und Sekretionen der Pansenschleimhaut, des Magens und des Pankreas. Beim Gesamtfett deuten sie auf mikrobielle Neusynthesen in den Vormägen, Abschilferungen von Schleimhäuten sowie Sekretionen der Verdauungsorgane hin.

Beim Lignin wurden negative ruminale Verschwindensraten und negative Verdaulichkeiten errechnet. Angesichts der geringen Gehalte an Lignin in den Probenmaterialien, der damit verbundenen hohen Streuung der Analytik und des insgesamt geringen quantitativen Beitrags des Lignins am Gesamtfluss an Trockenmasse sind die negativen Werte weitgehend zufallsbedingt.

Tabelle 6b: Flüsse an Nährstoffen durch den Verdauungstrakt: Ruminale Verschwindensraten und fäkale Verdaulichkeiten (total tract digestibility)

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Ruminale Verschwindensraten (%)					
TM	44,21	42,38	42,37	1,86	0,40
XA	-105,53	-119,54	-126,42	12,61	0,19
OS	55,12	54,10	54,57	1,45	0,68
XP, gesamt	10,45	7,81	7,61	3,63	0,59
TL	-19,59	-16,72	-17,27	5,48	0,82
NfE	68,58	67,14	67,49	1,49	0,54
XF	72,27	71,80	73,36	1,66	0,60
Hemicellulose	62,88	60,27	62,32	1,64	0,51
Cellulose	86,21	85,82	88,38	3,42	0,80
Lignin	-17,07	-24,19	-28,70	4,78	0,90
Fäkale Verdaulichkeiten (%)					
TM	74,5	73,7	73,8	0,5	0,39
XA	43,2	40,3	40,2	1,7	0,35
OS	76,8	76,1	76,2	0,4	0,44
XP, gesamt	71,8	70,3	70,1	0,8	0,26
TL	65,3	64,4	62,3	1,6	0,38
NfE	86,8	86,5	86,8	0,3	0,73
XF	75,5	75,5	75,8	0,7	0,95
Hemicellulose	76,0	75,8	74,7	1,6	0,80
Cellulose	88,1	86,8	85,9	1,9	0,71
Lignin	-35,1	-27,7	-25,1	6,0	0,45

3.3 Kompartimentierung der kationischen Mengen- und Spurenelemente im Duodenalchymus

Die Tabellen 7a bis 7d zeigen die Konzentrationen der kationischen Mengen- und Spurenelemente im Duodenalchymus und den vier Unterkompartimenten (flüssige Phase, grobe Partikel, feine Partikel, Mikroben) sowie die prozentualen Beiträge der einzelnen Fraktionen zu den Gesamtkonzentrationen im Chymus. Es zeigte sich kein Hinweis auf eine quantitativ relevante, statistisch sicherbare Verschiebung der Konzentrationsverhältnisse im Duodenalchymus und dessen Unterfraktionen durch die Behandlung. Lediglich beim Kupfer waren die Konzentrationen in der Trockenmasse der flüssigen Phase bei Behandlung mit reinem Glyphosat in Vergleich zu RoundUp erhöht, während die Kontrolle eine Zwischenstellung einnahm. Dies scheint ein falsch-positiver Zufallsbefund zu sein, da alle anderen Mineralstoffe und auch das Kupfer der anderen Unterfraktionen keine systematischen Auffälligkeiten zeigten. Insgesamt ergeben die Befunden zur Kompartimentierung des Duodenalchymus keine Hinweise auf einen quantitativ relevanten Effekt von Glyphosat als mutmaßlicher Komplexbildner für kationische Mineralstoffe.

Tabelle 7a: Gesamter Duodenalchymus: Konzentrationen an kationischen Mineralstoffe in der Frisch- und Trockenmasse

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Chymus gesamt, frisch					
Ca [mg/L]	401	366	385	25	0,24
Mg [mg/L]	109	104	106	5	0,62
Na [mg/L]	1439	1529	1467	55	0,16
K [mg/L]	672	670	669	20	0,93
Zn [mg/L]	3,02	2,85	2,96	0,21	0,56
Cu [mg/L]	0,799	0,742	0,762	0,042	0,24
Fe [mg/L]	24,4	22,8	23,5	1,9	0,56
Mn [mg/L]	1,85	1,76	1,79	0,10	0,55
Chymus gesamt, trocken					
Trockenmasse [%]	3,28	3,10	3,04	0,13	0,10
Ca [mg/kg TM]	12172	11775	12615	701	0,28
Mg [mg/kg TM]	3299	3375	3483	129	0,16
Na [mg/kg TM]	44663	49845	49156	3473	0,15
K [mg/kg TM]	20684	21806	22315	1096	0,13
Zn [mg/kg TM]	91,9	91,8	97,2	4,2	0,94
Cu [mg/kg TM]	24,3	23,9	25,0	0,7	0,33
Fe [mg/kg TM]	739	737	766	44	0,78
Mn [mg/kg TM]	56,2	56,6	58,9	2,6	0,28

Tabelle 7b: Flüssige Phase des Duodenalchymus: Konzentrationen an kationischen Mineralstoffen in der Frisch- und Trockenmasse sowie Beitrag zum Gesamtfluss an Mineralstoffen am Duodenum

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Flüssige Phase, frisch					
Ca [mg/L]	347	318	335	22	0,27
Mg [mg/L]	91,1	88,0	88,9	4,3	0,67
Na [mg/L]	1296	1389	1328	56	0,16
K [mg/L]	599	600	593	19	0,93
Zn [mg/L]	1,93	1,80	1,85	0,12	0,43
Cu [mg/L]	0,0513	0,0477	0,0526	0,010	0,07
Fe [mg/L]	5,00	4,48	4,57	0,74	0,66
Mn [mg/L]	1,53	1,47	1,50	0,09	0,64
Flüssige Phase, trocken					
Trockenmasse [%]	1,15	1,12	1,05	0,06	0,21
Ca [mg/kg TM]	30189	28430	32326	2792	0,26
Mg [mg/kg TM]	7958	7904	8662	745	0,41
Na [mg/kg TM]	113492	125200	130121	11690	0,24
K [mg/kg TM]	52515	54070	57798	4122	0,28
Zn [mg/kg TM]	169	161	178	16	0,51
Cu [mg/kg TM]	4,44	4,25	5,04	0,43	0,05
Fe [mg/kg TM]	437	398	451	79	0,72
Mn [mg/kg TM]	133	131	145	13	0,36
Flüssige Phase, Beitrag zum Gesamtgehalt an Mineralstoffen					
Ca [% Ca am Gesamtchymus]	84,8	85,2	85,3	1,0	0,67
Mg [% Mg am Gesamtchymus]	82,3	82,6	82,6	0,9	0,77
Na [% Na am Gesamtchymus]	88,1	89,0	88,7	0,8	0,34
K [% K am Gesamtchymus]	87,3	87,6	86,9	1,2	0,89
Zn [% Zn am Gesamtchymus]	62,7	62,0	61,9	2,0	0,92
Cu [% Cu am Gesamtchymus]	6,46	6,35	7,16	0,7	0,10
Fe [% Fe am Gesamtchymus]	20,1	19,2	19,5	2,2	0,89
Mn [% Mn am Gesamtchymus]	80,9	81,6	81,9	1,1	0,43

Tabelle 7c: Grobe und feine Partikel im Duodenalchymus: Konzentrationen an kationischen Mineralstoffen in der Trockenmasse sowie Beitrag zum duodenalen Gesamtfluss an Mineralstoffen

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Grobe Partikel					
Anteil am Chymus [g TM/L]	10,48	9,08	9,35	1,38	0,36
Ca [mg/kg TM]	2276	2265	2419	182	0,53
Mg [mg/kg TM]	702	706	698	45	0,96
Na [mg/kg TM]	6918	7219	6988	531	0,75
K [mg/kg TM]	3443	3457	3373	308	0,96
Zn [mg/kg TM]	43,6	43,5	48,4	6,9	0,73
Cu [mg/kg TM]	27,6	27,2	28,7	1,6	0,77
Fe [mg/kg TM]	642	616	667	43	0,53
Mn [mg/kg TM]	13,2	13,0	12,7	0,9	0,74
Grobe Partikel, Beitrag zum Gesamtgehalt an Mineralstoffen					
Ca [% Ca am Gesamtchymus]	6,07	5,55	6,16	0,89	0,77
Mg [% Mg am Gesamtchymus]	6,93	6,13	6,30	1,00	0,48
Na [% Na am Gesamtchymus]	5,05	4,30	4,46	0,79	0,41
K [% K am Gesamtchymus]	7,22	4,70	4,73	0,91	0,50
Zn [% Zn am Gesamtchymus]	18,8	17,3	15,4	2,4	0,78
Cu [% Cu am Gesamtchymus]	36,9	34,0	35,2	4,7	0,66
Fe [% Fe am Gesamtchymus]	27,8	25,1	26,8	3,4	0,60
Mn [% Mn am Gesamtchymus]	7,73	6,77	6,83	1,1	0,38
Feine Partikel					
Anteil am Chymus [g TM/L]	9,86	9,63	9,65	0,44	0,79
Ca [mg/kg TM]	3257	2942	2801	285	0,15
Mg [mg/kg TM]	1057	1075	1059	45	0,86
Na [mg/kg TM]	8270	8647	8275	255	0,11
K [mg/kg TM]	4218	4430	4787	591	0,63
Zn [mg/kg TM]	60,7	64,0	62,5	3,7	0,50
Cu [mg/kg TM]	41,6	41,4	41,8	1,1	0,97
Fe [mg/kg TM]	1181	1224	1193	73	0,72
Mn [mg/kg TM]	18,6	18,3	17,8	0,71	0,46
Feine Partikel, Beitrag zum Gesamtgehalt an Mineralstoffen					
Ca [% Ca am Gesamtchymus]	7,78	7,74	7,06	0,70	0,39
Mg [% Mg am Gesamtchymus]	9,42	9,88	9,68	0,63	0,66
Na [% Na am Gesamtchymus]	5,57	5,40	5,46	0,29	0,78
K [% K am Gesamtchymus]	5,92	6,32	7,00	0,92	0,46
Zn [% Zn am Gesamtchymus]	19,7	21,9	20,2	1,9	0,38
Cu [% Cu am Gesamtchymus]	51,6	53,6	52,8	3,4	0,71
Fe [% Fe am Gesamtchymus]	47,7	50,6	49,2	4,0	0,64
Mn [% Mn am Gesamtchymus]	9,7	10,0	9,6	0,72	0,83

Tabelle 7d: Mikrobenfraktion im Duodenalchymus: Konzentrationen an kationischen Mineralstoffen in der Trockenmasse sowie Beitrag zum duodenalen Gesamtfluss an Mineralstoffen

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Mikrobenfraktion					
Anteil am Chymus [g TM/L]	1,22	1,28	1,13	0,27	0,90
Ca [mg/kg TM]	4691	4351	5127	501	0,20
Mg [mg/kg TM]	1343	1202	1390	127	0,20
Na [mg/kg TM]	16915	16492	19593	1790	0,12
K [mg/kg TM]	8078	7528	8781	736	0,15
Zn [mg/kg TM]	63,6	62,4	64,9	4,1	0,79
Cu [mg/kg TM]	32,0	33,6	32,1	2,8	0,75
Fe [mg/kg TM]	901	917	933	74	0,96
Mn [mg/kg TM]	25,9	23,8	26,8	2,1	0,20
Mikrobenfraktion, Beitrag zum Gesamtgehalt an Mineralstoffen					
Ca [% Ca am Gesamtchymus]	1,33	1,49	1,47	0,25	0,60
Mg [% Mg am Gesamtchymus]	1,39	1,40	1,43	0,22	0,88
Na [% Na am Gesamtchymus]	1,33	1,33	1,41	0,21	0,71
K [% K am Gesamtchymus]	1,37	1,37	1,40	0,23	0,91
Zn [% Zn am Gesamtchymus]	2,48	2,78	2,47	0,53	0,78
Cu [% Cu am Gesamtchymus]	5,00	6,04	4,81	1,48	0,65
Fe [% Fe am Gesamtchymus]	4,47	5,07	4,54	0,92	0,72
Mn [% Mn am Gesamtchymus]	1,61	1,68	1,66	0,30	0,90

3.4 Flüsse an kationischen Mineralstoffen durch den Verdauungstrakt und Ganzkörperbilanzen

Tabelle 8 zeigt die Flussraten an den kationischen Mengen- und Spurenelementen am Duodenum und die im Vergleich zur Aufnahme über die Nahrung errechneten ruminalen Verschwindensraten entlang der Vormägen bis zum Duodenum. In keinem Fall ergab sich ein Hinweis auf einen Effekt der Behandlung mit Glyphosat. Die zum Teil negativen Verschwindensraten beruhen größtenteils auf endogenen Zuflüssen von Mineralstoffen durch Speichel, Sekretionen der Vormagenschleimhaut, des Magens und des Pankreas.

Tabelle 8: Flussraten kationischer Mengen und Spurenelemente am Duodenum und entsprechende ruminale Verschwindensraten

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Tägliche Flussraten					
Ca [g/d]	58,75	57,18	59,45	3	0.70
Mg [g/d]	15,27	15,40	15,19	0,9	0.973
Na [g/d]	168,44	178,84	172,19	14	0.67
K [g/d]	93,2	89,0	95,9	7,2	0,54
Zn [mg/d]	569	555	564	28	0.83
Cu [mg/d]	118	109	110	7	0.18
Fe [mg/d]	3577	3465	3429	224	0.61
Mn [mg/d]	283	273	279	13	0.65
Ruminale Verschwindensraten (%)					
Ca	-6,0	-2,9	-7,1	6,4	0,71
Mg	21,6	21,1	22,1	4,4	0,97
Na	-153,8	-169,3	-159,2	21,6	0,67
K	-23,3	-17,7	-26,9	9,5	0,51
Zn	-10,0	-7,3	-9,7	5,3	0,83
Cu	11,9	18,9	17,9	5,1	0,18
Fe	-0,8	2,5	3,8	6,3	0,61
Mn	-8,3	-4,7	-7,3	5,2	0,66

In Tabelle 8 sind die täglichen Mengen an Kot (frisch, trocken) und die jeweiligen TM-Gehalte dargestellt. Er ergab sich keine Hinweise auf einen Einfluss der Behandlung auf die mengenmäßigen Ausscheidungen an Kot und Harn.

Tabelle 8: Tägliche Ausscheidungen an Kot- und Harn (Frischmasse, TM-Gehalte und Mengen an TM)

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Kotausscheidungen					
Menge, frisch [g/d]	9,96	10,41	10,28	0,172	0,171
Konzentration an TM [%]	16,90	16,54	16,62	0,300	0,649
Menge, trocken[kg TM/d]	1,68	1,71	1,70	0,036	0,848
Harnausscheidungen					
Menge, frisch [kg/d]	15,0	16,5	15,5	0,853	0,450
Konzentration an TM [%]	4,92	4,68	4,76	0,165	0,534
Menge, trocken [kg TM/d]	0,663	0,690	0,686	0,032	0,789

Die Tabellen 9a und 9b zeigen die Bilanzen der kationischen Mengen und Spurenelemente, die sich aus dem Vergleich der Aufnahmen über das Futter mit den Ausscheidungen über Kot und Harn ergeben. Eine mutmaßliche Neigung von Glyphosat zur Bildung von Komplexen mit den kationischen Mineralstoffen hätte sich an verschiedenen Stellen äußern können, wie etwa in veränderten fäkalen Verdaulichkeiten bzw. renalen Exkretionen, Verschiebungen des Exkretionspfades zwischen Kot und Harn (Veränderung der Relation von renaler zu fäkaler Exkretion), und/oder veränderten Retentionen. Es zeigte sich jedoch in keinem Fall eine veränderte Dynamik der Exkretion und Retention infolge der Exposition des Futters mit Glyphosat.

Tabelle 9a: Bilanzen an kationischen Mengen- und Spurenelemente (Aufnahme, fäkale und renale Exkretion, Retention): Calcium, Magnesium, Natrium, Kalium

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Calcium					
Aufnahme [g/d]	55,8	55,8	55,8	---	---
Kot [g/d]	52,6	53,4	56,1	1,7	0,30
Scheinbare Verdaulichkeit [%]	5,24	3,94	-0,89	3,01	0,31
Harn, absolut[g/d]	1,22	1,50	1,76	0,27	0,36
Harn in % der Aufnahme [%]	2,19	2,73	3,12	0,49	0,38
Relation Harn/Kot	0,023	0,028	0,032	0,006	0,53
Retention [g/d]	1,91	0,91	-2,05	1,64	0,21
Magnesium					
Aufnahme [g/d]	19,5	19,5	19,5	---	---
Kot [g/d]	15,7	16,4	16,6	0,47	0,30
Scheinbare Verdaulichkeit [%]	19,7	16,0	14,8	2,39	0,31
Harn, absolut [g/d]	3,95	3,77	4,08	0,21	0,55
Harn in % der Aufnahme [%]	20,2	19,4	20,9	1,07	0,58
Relation Harn/Kot	0,26	0,24	0,25	0,01	0,48
Retention [g/d]	-0,08	-0,63	-1,16	0,53	0,34
Natrium					
Aufnahme [g/d]	66,4	66,4	66,4	---	---
Kot [g/d]	7,27	8,30	7,72	0,47	0,29
Scheinbare Verdaulichkeit [%]	89,1	87,5	88,4	0,71	0,29
Harn, absolut[g/d]	63,9	77,3	65,3	7,52	0,36
Harn in % der Aufnahme [%]	96,2	116	98,3	11,3	0,36
Relation Harn/Kot	8,90	9,32	8,89	0,70	0,87
Retention [g/d]	-4,73	-19,2	-6,66	7,85	0,35
Kalium					
Aufnahme [g/d]	75,6	75,6	75,6	--	--
Kot [g/d]	4,91	5,12	5,22	0,60	0,81
Scheinbare Verdaulichkeit [%]	93,5	93,2	93,1	0,8	0,81
Harn, absolut[g/d]	64,6	66,4	66,3	3,5	0,85
Harn in % der Aufnahme [%]	85,5	87,8	87,7	4,7	0,85
Relation Harn/Kot	13,7	13,7	13,2	1,5	0,73
Retention [g/d]	6,0	3,9	4,1	3,5	0,78

Tabelle 9b: Bilanzen an kationischen Mengen- und Spurenelemente (Aufnahme, fäkale und renale Exkretion, Retention): Zink, Kupfer, Eisen, Mangan

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Zink					
Aufnahme [mg/d]	519	519	519	---	---
Kot [mg/d]	494	522	541	20	0,25
Scheinbare Verdaulichkeit [%]	95,5	101	105	4,0	0,23
Harn, absolut[mg/d]	1,26	1,24	1,36	0,07	0,40
Harn in % der Aufnahme [%]	0,24	0,24	0,26	0,01	0,40
Relation Harn/Kot × 1000	2,55	2,45	2,58	0,16	0,82
Retention [mg/d]	23,0	-4,90	-24,1	20,1	0,25
Kupfer					
Aufnahme [mg/d]	134	134	134	---	---
Kot [mg/d]	101	103	104	3,3	0,71
Scheinbare Verdaulichkeit [%]	25,0	23,1	22,3	2,5	0,71
Harn, absolut[mg/d]	0,73	0,77	0,75	0,05	0,88
Harn in % der Aufnahme [%]	0,55	0,57	0,56	0,04	0,88
Relation Harn/Kot × 1000	7,27	7,59	7,33	0,51	0,88
Retention [mg/d]	32,9	30,4	29,3	3,32	0,71
Eisen					
Aufnahme [mg/d]	3556	3556	3556	---	---
Kot [mg/d]	3189	3455	3319	188	0,58
Scheinbare Verdaulichkeit [%]	10,4	3,00	6,80	5,3	0,59
Harn, absolut[mg/d]	5,85	6,96	6,26	0,67	0,47
Harn in % der Aufnahme [%]	0,16	0,20	0,18	0,02	0,48
Relation Harn/Kot × 1000	1,95	2,18	2,11	0,19	0,65
Retention [mg/d]	361	94	231	188	0,58
Mangan					
Aufnahme [mg/d]	261	261	261	---	---
Kot [mg/d]	260	268	274	9,34	0,56
Scheinbare Verdaulichkeit [%]	0,30	-2,93	-5,05	3,58	0,54
Harn, absolut[mg/d]	0,89	1,02	0,97	0,06	0,27
Harn in % der Aufnahme [%]	0,34	0,39	0,37	0,02	0,27
Relation Harn/Kot × 1000	3,42	3,89	3,54	0,20	0,23
Retention [mg/d]	0,005	-8,15	-13,7	9,36	0,56

3.5 Konzentrationen an kationischen Mengen- und Spurenelementen im Blutplasma

Tabelle 10 zeigt die Konzentrationen an kationischen Mengen- und Spurenelementen im Blutplasma der Tiere am Ende der *wash-out*-Phase bzw. am Ende der Versuchsperioden (unmittelbar vor bzw. 3 Stunden nach der Morgenfütterung). Es ergab sich zu keinem Zeitpunkt und bei keinem untersuchten Element ein Hinweis auf einen Effekt der Behandlung der Tiere mit Glyphosat.

Tabelle 10: Konzentrationen an kationischen Mengen- und Spurenelementen im Blutplasma

	Kontrolle	Glyphosat	RoundUp	SEM	p <
Am Ende der wash-out-Phase (unmittelbar von der Fütterung)					
Ca [mg/L]	87,1	88,6	87,5	2,4	0,75
Mg [mg/L]	17,7	18,3	17,2	0,8	0,26
Na [mg/L]	3032	3026	3006	50	0,80
K [mg/L]	137	145	139	5	0,14
Zn [mg/L]	0,593	0,619	0,583	0,048	0,64
Cu [mg/L]	0,889	0,909	0,944	0,068	0,61
Fe [mg/L]	1,24	1,35	1,29	0,14	0,69
Mn [µg/L]	1,63	1,49	0,84	0,50	0,16
Am Ende der Versuchsperioden, unmittelbar vor der Fütterung					
Ca [mg/L]	82,6	82,5	83,7	2,3	0,75
Mg [mg/L]	16,7	16,8	16,8	0,6	0,95
Na [mg/L]	2977	2981	3014	36	0,39
K [mg/L]	137	138	137	5	0,92
Zn [mg/L]	0,572	0,634	0,581	0,044	0,22
Cu [mg/L]	0,934	0,868	0,916	0,048	0,26
Fe [mg/L]	1,10	1,31	1,33	0,12	0,07
Mn [µg/L]	1,84	1,35	1,93	0,74	0,59
Am Ende der Versuchsperioden, 3 Stunden nach der Fütterung					
Ca [mg/L]	86,3	84,5	86,8	3,6	0,71
Mg [mg/L]	18,2	17,7	18,0	1,3	0,90
Na [mg/L]	3039	2960	3086	135	0,53
K [mg/L]	137	132	143	7	0,19
Zn [mg/L]	0,596	0,652	0,581	0,062	0,36
Cu [mg/L]	0,964	0,813	1,010	0,116	0,13
Fe [mg/L]	1,19	1,33	1,38	0,11	0,11
Mn [µg/L]	1,96	2,19	3,45	0,93	0,14

3.6 Verwertbarkeit der Ergebnisse

In der vorliegenden *in-vivo*-Studie wurden Mutmaßungen über Effekte von Glyphosat, die größtenteils aus isolierten *in vitro*-Studien abgeleitet wurden, an lebenden Zieltieren in einer integrativen Gesamtschau geprüft. Allein dieses Vorgehen ist beispielhaft für den Umgang mit Stoffen, deren Sicherheit für das Nutztier, den Anwender, den Konsumenten und die Umwelt zu prüfen ist.

Die Ergebnisse zeigen mit hoher Präzision die Abwesenheit eines Effekts von Glyphosat in der eingesetzten Dosierung auf die Verdauungsprozesse und den Stoffwechsel der Mineralstoffe. Die Befunde tragen damit eine Fülle von neutralen Sachinformationen zur gegenwärtig kritischen Diskussion über Glyphosat bei. Die Publikation der Befunde in wissenschaftlichen peer-review-Zeitschriften wird vorbereitet.

4 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war die Prüfung eines möglichen Einflusses von Glyphosat als Reinsubstanz oder als kommerzielles Produkt auf die Verdauungsvorgänge beim Rind mit besonderem Schwerpunkt auf einer eventuelle Chelierung von Mineralstoffen und/oder einer Modulation der ruminalen Proteinsynthese. Hierzu wurden neun Rinder, die mit Pansenfisteln und Duodenalkanülen ausgestattet waren, im Form eines *split-plot*-Designs über 3 Versuchsperioden hinweg mit einer Ration versorgt, die auf drei unterschiedliche Arten mit Glyphosat versetzt war (kein Glyphosat (Kontrolle), 100 mg Glyphosat pro Tier und Tag als Reinsubstanz bzw. 100 mg Glyphosat pro Tier und Tag über ein kommerzielles Herbizid (RoundUp)). Die Messungen umfassten die Parameter der Pansenfermentation, die Kinetik des ruminalen Abbaus der Futtermittel (*in sacco*-Methode), Flüsse von Nährstoffen und Mineralstoffen am Duodenum sowie deren scheinbare Verdaulichkeit (Messung über die fäkalen Exkretionen), komplette Bilanzen an Mineralstoffen (Aufnahme, Ausscheidung über Kot und Harn) sowie Mineralstoffkonzentrationen im Blutplasma.

Die Ergebnisse zeigen klar, dass weder reines Glyphosat noch Glyphosat in Form eines kommerziellen Produkts (RoundUp) in der gewählten Dosierung die Verdauungsvorgänge in erkennbarer Weise beeinflusst. Mutmaßliche Effekte von Glyphosat als Chelator kationischer Mengen- und Spurenelemente sowie Veränderungen der ruminalen Proteinsynthese können ausgeschlossen werden.

5 Vergleich von geplanten und tatsächlich erreichten Zielen, weiterführende Fragestellungen

Es konnten alle geplanten Arbeitsschritte durchgeführt und auch die gestellten Fragen mit hoher statistischer Aussagekraft beantwortet werden.

Das Datenmaterial ist derart umfangreich, dass bislang nur Teilaspekte betrachtet werden konnten. Der eigentliche Wert des Gesamtprojekts wird erst in der Zusammenschau aller Teilprojekte erkennbar werden. Hierzu sind in Abhängigkeit des Auswertungsfortschritts mit Sicherheit noch weitere Detailanalysen erforderlich. Es ist deshalb sehr zu empfehlen, die bislang gesammelten experimentellen und analytischen Mosaiksteine zu einem Gesamtbild zusammenzufügen, dies könnte als Muster für künftige Projekte zu ähnlichen Problemfeldern dienen.

Literatur

Brandt M. und Allam, S.M. (1987): Analytik von TiO_2 im Darminhalt und Kot nach Kjeldahlaufschluss. *Archives of Animal Nutrition* 37, 453–454.

Choi C.W., Ahvenjärvi S., Vanhatalo A., Toivonen V., Huhtanen P., 2002. Quantitation of the flow of soluble non-ammonia nitrogen entering the omasal canal of dairy cows fed grass silage based diets. *Animal Feed Science and Technology* 96, 203-220.

Lebzien, P., & Paul, C. (1997). Use of near-infrared reflectance spectroscopy for the estimation of the microbial portion of non-ammonia-nitrogen in the duodenum of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 68(3–4), 225–233

McDonald, I. (1981): A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *The Journal of Agricultural Science* 96, 251-252.

Naumann C. und Bassler R. (1976, 2012): VDLUFA-Methodenbuch, Band III, Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Auflage, 8. Ergänzungslieferung 2012. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany.