

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

BÖLN

Bundesprogramm Ökologischer Landbau
und andere Formen nachhaltiger
Landwirtschaft

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Schlussbericht zum Thema “Bedarfsgerechte ökologische Fütterung von Geflügel – Schwerpunkt: Neue Quellen für Riboflavin (Vitamin B₂)“

FKZ: 2811OE099; 2815OE052

Projektnehmer:

FiBL Deutschland e.V.

Agrano GmbH & Co. KG

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Bedarfsgerechte ökologische Fütterung von Geflügel – Schwerpunkt: Neue Quellen für Riboflavin (Vitamin B₂)



EcoVit Suspension (links) und Trockenprodukt (rechts) Quelle: Agrano

Autoren: C. Lambertz, J. Leopold, F. Leiber (FiBL); L. Dumont (Agrano GmbH & Co. KG); W. Vogt-Kaute (Öko-Beratungs-Gesellschaft); K. Damme (Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum für Geflügel- und Kleintierhaltung Kitzingen); G. Bellof (Hochschule Weihenstephan-Triesdorf)

**Förderkennzeichen: 2811OE099 (FiBL Deutschland e.V.)
2815OE052 (Agrano GmbH & Co. KG)**

Laufzeit: 01.01.2017 – 31.03.2020

Am Projekt beteiligte Kooperationspartner:

Öko-BeratungsGesellschaft – Fachberatung für Naturland

Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum für Geflügel- und Kleintierhaltung Kitzingen (LVFZ)

Hochschule Weihenstephan-Triesdorf (HSWT)

Kurzfassung

Bedarfsgerechte ökologische Fütterung von Geflügel – Schwerpunkt: Neue Quellen für Riboflavin (Vitamin B₂)

C. Lambertz¹, J. Leopold¹, F. Leiber², L. Dumont³, W. Vogt-Kaute⁴, K. Damme⁵; G. Bellof⁶.

¹ Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL), 60486 Frankfurt am Main

² Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL), 5070 Frick, Schweiz

³ Agrano GmbH & Co. KG, 79359 Riegel am Kaiserstuhl

⁴ Öko-BeratungsGesellschaft – Fachberatung für Naturland, 85411 Hohenkammer

⁵ Lehr-, Versuchs-, und Fachzentrum für Geflügel, 97318 Kitzingen

⁶ Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, 85354 Freising

Gegenstand war die Entwicklung eines Verfahrens zur Produktion eines Riboflavin-reichen Einzelfuttermittels aus ökologischer Erzeugung, das den ökologischen Landbau von der Supplementierung mit konventionellen Produkten unabhängig macht. Das Produkt wurde durch Fermentation von Bio-Rohstoffen mit dem Hefe-Pilz *Ashbya gossypii* hergestellt. Während der Fermentation bildet *A. gossypii* neben einer proteinreichen Biomasse auch Vitamin B₂. Das Material aus der Fermentation konnte zu einer bio-zertifizierten, verkaufsfähigen Ware, die in flüssiger und pulverförmiger Form angeboten wird, entwickelt werden. Das Produkt EcoVit R wurde in flüssiger Form als Fermentations-Suspension an Masthühnern und Masthühner-Elterntieren getestet. Es zeigte sich, dass das Produkt bei gleicher Dosierungshöhe als Alternative zu konventionell erzeugtem Riboflavin eingesetzt werden kann. Bei den Masthühner-Elterntieren zeigten sich beim Vergleich der Fermentations-Suspension mit konventionell erzeugtem Riboflavin keine Unterschiede hinsichtlich Leistungs- und Brutparameter. In weiteren Versuchen wurde das Trockenprodukt aus der *A. gossypii*-Fermentation bei Masthühnern, Mastputen und Legehennen untersucht. Sowohl bei den Masthühnern als auch bei den Mastputen reichte die Fütterung ohne Riboflavin-Supplementierung und mit ausschließlich natürlichen Riboflavin-Gehalten der Futterkomponenten nicht aus, um den physiologischen Bedarf der Tiere zu decken. Stark erhöhte Riboflavin-Supplementierungen hingegen führten nicht zu verbesserten Leistungen oder Vorteilen hinsichtlich Tierwohlindikatoren. Bei Legehennen konnten keine leistungssteigernden Effekte durch eine zusätzliche Vitamin B₂-Zulage in Form des Fermentations-Trockenproduktes nachgewiesen werden. Zusammenfassend wurde die Notwendigkeit der Riboflavin-Supplementierung vor allem in den ersten Lebenswochen des Mastgeflügels gezeigt. Die entwickelten Fermentations-Produkte zeigten ihre Wirksamkeit, den Riboflavin-Bedarf beim Geflügel abzudecken.

Abstract

Demand-oriented nutrition of poultry - Focus: New sources for riboflavin (vitamin B₂)

C. Lambertz¹, J. Leopold¹, F. Leiber², L. Dumont³, W. Vogt-Kaute⁴, K. Damme⁵; G. Bellof⁶.

¹Research Institute of Organic Farming (FiBL), 60486 Frankfurt am Main

²Research Institute of Organic Farming (FiBL), 5070 Frick, Switzerland

³Agrano GmbH & Co. KG, 79359 Riegel am Kaiserstuhl

⁴Öko-BeratungsGesellschaft – Fachberatung für Naturland, 85411 Hohenkammer

⁵Lehr-, Versuchs-, und Fachzentrum für Geflügel, 97318 Kitzingen

⁶Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, 85354 Freising

The aim of this project was to develop a process to produce a feed material with a high native content of riboflavin (vitamin B₂), so that organic farming will get independent of the supplementation of this vitamin from conventional production. The product was produced through fermentation of organic raw materials by the yeast-like fungi *Ashbya gossypii*. In addition to its protein-rich biomass, *A. gossypii* produces natural vitamin B₂ during the fermentation. This material was developed into a marketable organically- certified product that is offered in liquid and powder form. The product EcoVit R was tested in liquid form in feeding trials with broiler and broiler parents. Results showed to be an alternative to conventional products when used at similar dosage. In broiler parents the newly developed product did not show any difference in terms of performance and breeding parameters when compared to the conventional vitamin supplementation. The dried product was tested in broiler, turkeys and laying hens. In broiler and turkeys alike, diets without any riboflavin supplementations did not meet the demand of the animals. Excessive riboflavin supplementations, though, did not increase performance or health of the animals. In laying hens, the supplementation of the dried product did not show any effect on performance. In summary, the feeding trials showed the necessity to supplement organic diets with riboflavin especially in the first weeks of age. The developed fermentation products showed its effectiveness to meet the riboflavin demand of poultry.

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung	12
1.1 Gegenstand des Vorhabens	12
1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes	12
1.2.1 Projektteil Agrano GmbH & Co. KG	12
1.2.2 Projektteil FiBL Deutschland e.V.	13
1.3 Planung und Ablauf des Projektes	13
2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	14
2.1 Grundlagen der Riboflavin-Produktion	14
2.2 Gesetzliche Regelungen zur Geflügelfütterung in der EU-Öko-Verordnung	15
2.3 Vitamine – Funktion und Bedarf	16
2.4 Riboflavin-Gehalte ausgewählter Futtermittel	19
2.5 Leistungsauswirkungen von Vitaminen auf Nutzgeflügel	22
2.6 Effekt der Vitaminversorgung auf Tiergesundheit und Tierwohl	24
3. Material und Methoden	26
3.1 Projektteil Agrano GmbH & Co. KG	26
3.2 Projektteil FiBL Deutschland e.V.	26
3.2.1 Fütterungs-Vorversuche	26
3.2.2 Versuch 1: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension	27
3.2.2.1 Tiere und Haltung	27
3.2.2.2 Fütterung	27
3.2.2.3 Datenerhebung	31
3.2.2.4 Statistische Analyse	33
3.2.3 Versuch 2 – Durchgang 1: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt	33
3.2.3.1 Tiere und Haltung	33
3.2.3.2 Fütterung	33
3.2.3.3 Datenerhebung	37
3.2.3.4 Statistische Analyse	37
3.2.4 Versuch 2 – Durchgang 2: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt	38
3.2.4.1 Tiere und Haltung	38
3.2.4.2 Fütterung	38
3.2.4.3 Datenerhebung	42
3.2.4.4 Statistische Auswertung	43
3.2.5 Versuch 3: Praxisfütterungsversuch in der Aufzucht von Masthähnchen mit dem Fermentations-Trockenprodukt	43

3.2.5.1	<i>Tiere und Haltung</i>	43
3.2.5.2	<i>Fütterung</i>	44
3.2.5.3	<i>Datenerhebung</i>	44
3.2.6	<i>Versuch 4: Fütterungsversuch von Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension</i>	45
3.2.6.1	<i>Tiere und Haltung</i>	45
3.2.6.2	<i>Fütterung</i>	45
3.2.6.3	<i>Datenerhebung</i>	48
3.2.6.4	<i>Statistische Analyse</i>	49
3.2.7	<i>Versuch 5: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Mastputen mit dem Fermentations-Trockenprodukt</i>	50
3.2.7.1	<i>Tiere und Haltung</i>	50
3.2.7.2	<i>Fütterung</i>	51
3.2.7.3	<i>Datenerhebung</i>	57
3.2.7.4	<i>Statistische Analyse</i>	57
3.2.8	<i>Versuch 6: Fütterungsversuch von Legehennen mit dem Fermentations-Trockenprodukt</i> 58	
3.2.8.1	<i>Tiere und Haltung</i>	58
3.2.8.2	<i>Fütterung</i>	60
3.2.8.3	<i>Datenerhebung</i>	63
3.2.8.4	<i>Statistische Analyse</i>	64
4.	Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse	65
4.1	Projektteil Agrano GmbH & Co. KG	65
4.1.1	<i>Identifizierung von geeigneten Mikroorganismen, Medienformulierung, Fermentation und Produktaufarbeitung</i>	65
4.1.1.1	<i>Hefen Candida/Debaryomyces</i>	65
4.1.1.2	<i>Ashbya gossypii</i>	65
4.1.1.3	<i>Fermentation</i>	66
4.1.1.4	<i>Trocknung</i>	66
4.1.2	<i>Einmischen in Futtermittel und Wiederfindungsrate</i>	69
4.1.3	<i>Formulierung und Untersuchung der Lagerfähigkeit der Suspension und des Pulvers</i>	71
4.2	Projektteil FiBL Deutschland e.V.	74
4.2.1	<i>Fütterungs-Vorversuche zur Äquivalenz der Fermentations-Suspension</i>	74
4.2.2	<i>Versuch 1: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension</i>	76
4.2.2.1	<i>Leistungsparameter</i>	76
4.2.2.2	<i>Schlachtparameter</i>	80
4.2.2.3	<i>Gesundheits- und Tierwohlparameter</i>	81

4.2.3 Versuch 2 – Durchgang 1: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt	83
4.2.3.1 Leistungparameter.....	83
4.2.3.2 Schlachtparameter.....	87
4.2.3.3 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren	89
4.2.4 Versuch 2 – Durchgang 2: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt	90
4.2.4.1 Leistungparameter.....	90
4.2.4.2 Schlachtparameter.....	95
4.2.4.3 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren	98
4.2.5 Versuch 3: Praxisfütterungsversuch in der Aufzucht von Masthähnchen mit dem Fermentations-Trockenprodukt	99
4.2.5.1 Leistungparameter.....	99
4.2.5.2 Schlachtparameter.....	101
4.2.5.3 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren	102
4.2.6 Versuch 4: Fütterungsversuch mit Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension.....	103
4.2.7 Versuch 5: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Mastputen mit dem Fermentations-Trockenprodukt	106
4.2.7.1 Leistungparameter.....	106
4.2.7.2 Futteraufnahme	107
4.2.7.3 Gewichtsentwicklungen.....	107
4.2.7.4 Futtermittelverwertung	108
4.2.7.5 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren	112
4.2.8 Versuch 6: Fütterungsversuch mit Legehennen mit dem Fermentations-Trockenprodukt 114	
4.2.8.1 Leistungparameter.....	114
4.2.8.2 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren	117
5. Diskussion der Ergebnisse	119
5.1 Masthühner	119
5.2 Masthühner-Elterntiere	122
5.3 Putenaufzucht.....	125
5.4 Legehennen.....	127
6. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertung der Ergebnisse	128
7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen	129
7.1 Projektteil Agrano GmbH & Co. KG	129
7.2 Projektteil FiBL Deutschland e.V.	129
7.2.1 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen .	129

7.3	Hinweise auf weiterführende Fragestellungen.....	130
8.	Zusammenfassung	131
8.1	Projektteil Agrano GmbH & Co. KG	131
8.2	Projektteil FiBL Deutschland e.V.	132
9.	Literaturverzeichnis	138
10.	Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt.....	143
10.1	Veröffentlichungen in referierten Fachzeitschriften.....	143
10.2	Berichte in landwirtschaftlichen Zeitschriften	143
10.3	Präsentationen auf Fachveranstaltungen.....	143
10.4	Posterbeiträge auf Fachveranstaltungen.....	144
10.5	Stellungnahmen.....	144
11.	Anhang.....	145

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel von Riboflavin	17
Abbildung 2: Riboflavin-Gehalte in der Trockensubstanz ausgewählter Futtermittel.....	19
Abbildung 3: Stoffwechselfvorgänge eines genetisch veränderten <i>Ashbya gossypii</i> Hefe-Pilzes	22
Abbildung 4: Darstellung eines an Curled-toe Paralysis erkrankten Kükens	24
Abbildung 5: Ausprägungsgrade nach Welfare Quality® (2009) für Pododermatitis von Score 0 (links) bis Score 2b (rechts) (Abb. nach Welfare Quality® (2009))	31
Abbildung 6: Schema für Leberscore	32
Abbildung 7: Mobilstall für Masthühner	44
Abbildung 8: Ausstattung eines beispielhaften Versuchsabteils am Standort Zurnhausen an Tag 1 mit einer Futterschale zur Futterangewöhnung.	51
Abbildung 9: Vitamin B ₂ -Gehalte in den Alleinfuttermischungen im Aufzuchtversuch mit Mastputen (Phase I).....	55
Abbildung 10: Rundbogenhalle mit dem umliegenden Auslauf für die Versuchstiere am Standort Grünschwaige	59
Abbildung 11: Aufbau der Versuchsställe mit den Ausläufen beispielhaft für Stall 1 (LM 2,0 = Versuchsgruppe mit 2 mg Riboflavin/kg Alleinfuttermischung usw.).....	59
Abbildung 12: Körpergewichtsentwicklung des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension (LS-Means, ± SE).....	77
Abbildung 13: Körpergewichte des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1) (LS-Means ± SE). Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.	84
Abbildung 14: Tageszunahmen des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1) (LS-Means ± SE). Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.	85
Abbildung 15: Futterverbrauch des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1) (LS-Means ± SE). Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.	86
Abbildung 16: Leberscore des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2). Der Riboflavingehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.	89
Abbildung 17: Lebendgewicht in der jeweiligen Mastwoche des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means ± SE)..	91
Abbildung 18: Tageszunahmen in der jeweiligen Mastwoche des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means ± SE)..	92
Abbildung 19: Futterverbrauch je Tier und Tag in der jeweiligen Mastwoche des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means ± SE). Unterschiedliche Kennzeichnungen (a, b, c) zeigen signifikante Unterschiede in der jeweiligen Woche bei P < 0,05).....	93
Abbildung 20: Prozentuale Häufigkeit der Leberscores des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)	97

Abbildung 21: Prozentuale Häufigkeit des Auftretens von Fußballendermatitis des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)	99
Abbildung 22: Futterverwertung des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt	101
Abbildung 23: Gefiederverschmutzung des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt.....	102
Abbildung 24: Fußballenscore des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt	103
Abbildung 25: "Curled-Toe-Paralysis", eine für Riboflavin - Mangel typische Mangelerscheinung bei einem Versuchstier	112

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vergleich der Empfehlungen zur Riboflavin-Versorgung von Geflügel verschiedener Autoren.....	18
Tabelle 2: Riboflavin-Gehalte (in mg/kg Trockensubstanz) in Getreide und Körnerleguminosen.....	20
Tabelle 3: Trockensubstanz- und Riboflavin-Gehalt sowie Mischungsanteile der Futterkomponenten in den Starter- und Mast-Alleinfuttermischungen des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension.....	28
Tabelle 4: Inhaltsstoffzusammensetzung der Starter- und Mastalleinfuttermischungen sowie der Fermentations-Suspension des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension	30
Tabelle 5: Schema für Pododermatitis (nach Welfare Quality®, 2009)	31
Tabelle 6: Schema für Gefiederverschmutzung (nach Welfare Quality®, 2009).....	31
Tabelle 7: Riboflavin-Gehalte sowie Mischungsanteile der Futterkomponenten im Starter-, Aufzucht 1- und Aufzucht 2- Alleinfutter des Masthühnersversuches mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1)	34
Tabelle 8: Inhaltsstoffzusammensetzung der Starter-, Aufzucht 1 und Aufzucht 2- Alleinfuttermischungen sowie des Fermentations-Trockenproduktes des Masthühnersversuches mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1)	36
Tabelle 9: Riboflavin-Gehalte der Futterkomponenten des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)	40
Tabelle 10: Inhaltsstoffzusammensetzung der Starter-, Aufzucht 1- und Aufzucht 2- Alleinfuttermischungen des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)	41
Tabelle 11: Riboflavin-Gehalte (in mg/kg Alleinfutter) der Starter-, Aufzucht 1- und Aufzucht 2- Alleinfuttermischungen des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)	42
Tabelle 12: Trockensubstanz- und Riboflavin-Gehalt sowie Zusammensetzung der Grundfuttermischung im Fütterungsversuch mit Masthühner-Elterntieren.....	46
Tabelle 13: Inhaltsstoffzusammensetzung (inkl. Riboflavin-Gehalt am Versuchsstart und -ende) der Alleinfuttermischungen und der Fermentations-Suspension im Fütterungsversuch mit Masthühner-Elterntieren	48
Tabelle 14: Berechnete Zielwerte der Alleinfuttermischungen (AF) im Aufzuchtversuch mit Mastputen (Phase I).....	53
Tabelle 15: Zusammensetzung der Alleinfuttermischungen (in %) im Aufzuchtversuch mit Mastputen.....	54
Tabelle 16: Analytierte Inhaltsstoffe und ME-Gehalte der Alleinfuttermischungen im Aufzuchtversuch mit Mastputen (Phase I)	56
Tabelle 17: Zusammensetzung der Alleinfuttermischungen im Legehennenversuch (in %, jeweils bezogen auf die Originalsubstanz).....	61
Tabelle 18: Analytierte Inhaltsstoffe sowie Energiegehalte (jeweils bezogen auf die Originalsubstanz) der im Legehennen-Fütterungsversuch eingesetzten Alleinfuttermischungen	62
Tabelle 19: Inhaltsstoffe und Energiegehalte (jeweils bezogen auf die Trockensubstanz) der Aufwuchsproben (Mischproben über alle Varianten) aus den Ausläufen der Legehennen	63

Tabelle 20: Mittelwert von Futtermittelanalysewerten verschiedener Chargen des EcoVit R Pulvers von Großproduktionen (Walzentrocknung)	68
Tabelle 21: Analyseergebnisse der Riboflavin-Konzentration von 6 Einzelproben der jeweiligen Futterarten, mit konventionellem Vitamin B ₂ und der EcoVit R-Fermentersuspension sowie dessen Mittelwert, Standardabweichung (SD) und Variationskoeffizient (VK).....	70
Tabelle 22: Ergebnisse der Lagertests mit EcoVit R, EcoVit R st und EcoVit Pulver unter Angabe der Gebindeart, Lagertemperatur, Lagerdauer und Konzentration an Riboflavin	72
Tabelle 23: Ergebnisse der Lagerung einer Charge EcoVit R Pulver nach 202 Tagen bei 30 °C - Analyse der Nährstoffgehalte.....	73
Tabelle 24: Ergebnisse der Lagerung von nativem Geflügelfutter, Alleinfutter mit konventionellem Vitamin B ₂ und EcoVit R.....	74
Tabelle 25: Futtermittelverbrauch, Ei-Anzahl und Gewichtszunahme in den beiden Legehennen-Durchgängen des Vorversuches.....	75
Tabelle 26: Futtermittelverbrauch und Gewichtszunahme in den drei Masthühner-Durchgängen des Vorversuches.....	76
Tabelle 27: Leistungsparameter des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension (LS-Means).....	78
Tabelle 28: Entwicklung der täglichen Zunahmen (g/Tag) des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension (LS-Means)	79
Tabelle 29: Schlachtparameter des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension (LS-Means).....	81
Tabelle 30: Chi-Quadrat-Test der Leberfarbe und Fußballendermatitis des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension	82
Tabelle 31: Leistungsparameter des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1) (LS-Means).....	87
Tabelle 32: Schlachtparameter des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1) (LS Means)	88
Tabelle 33: Chi-Quadrat-Test der Gefiederverschmutzung und Fußballendermatitis am Ende der Mastperiode des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1).....	90
Tabelle 34: Leistungsdaten des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means).....	95
Tabelle 35: Schlachtdaten des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means).....	98
Tabelle 36: Lebendgewichte des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt	100
Tabelle 37: Schlachtparameter des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt	101
Tabelle 38: Legeleistung, Körpergewicht, Riboflavin-Gehalt im Ei und Futtermittelverbrauch des Fütterungsversuches von Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension .	104
Tabelle 39: Eizusammensetzung und Riboflavin-Gehalt im Ei des Fütterungsversuches von Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension.....	105
Tabelle 40: Zuchtleistung des Fütterungsversuches von Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension	106
Tabelle 41: Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme (g/d) von männlichen Mastputen (Aufzuchtphase) aus ökologischer Erzeugung in Abhängigkeit von der Versorgung mit	

essentiellen Aminosäuren (Aminosäuren-Stufe) und Riboflavin (Vitamin B2-Stufe) (LS-Means \pm SE)	109
Tabelle 42: Durchschnittliche Lebendmasseentwicklung (in g) von männlichen Mastputen (Aufzuchtphase) aus ökologischer Erzeugung in Abhängigkeit von der Versorgung mit essentiellen Aminosäuren (Aminosäuren-Stufe) und Riboflavin (Vitamin B2-Stufe) (LS-Means \pm SE)	110
Tabelle 43: Durchschnittlicher Futtermittelverbrauch pro kg Zuwachs (in kg/kg) von männlichen Mastputen (Aufzuchtphase) aus ökologischer Erzeugung in Abhängigkeit von der Versorgung mit essentiellen Aminosäuren (Aminosäuren-Stufe) und Riboflavin (Vitamin B2-Stufe) (LS-Means \pm SE)	111
Tabelle 44: Stufen des „Gait Score“ zur Bewertung von Auffälligkeiten im Gangbild von jungem Mastgeflügel.....	113
Tabelle 45: Ausprägung des Gait Scores der auffälligen Tiere aus den Varianten 1.6 und 2.6 (Score 0 bis 5).....	114
Tabelle 46: Futtermittelverbrauch und Gewichtsentwicklung der Legehennen vor und während der Versuchsperiode (2 Wochen Vor-Versuch und 7 Wochen Versuchsdauer) (LS-Means \pm SE)	115
Tabelle 47: Legeleistungsdaten sowie die Eierklassensortierung der Versuchsgruppen vor und während des Versuchs (2 Wochen Vor-Versuch und 7 Wochen Versuchsdauer) (LS-Means \pm SE).	116
Tabelle 48: Riboflavin-Gehalte im Vollei sowie in den Lebern ausgewählter Legehennen (LS Means).....	117
Tabelle 49: Riboflavin-Verteilung in Eidotter und Eiklar (je Variante wurden zwei mittelwertnahe Eier vom 07.11.2019 untersucht, arithmetische Mittelwerte, jeweils bezogen auf die Originalsubstanz (OS) – sofern nicht anders angegeben)	118

Abkürzungsverzeichnis

AF	Alleinfuttermischung
AME _n	Umsetzbare Energie, Stickstoff-korrigiert
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
EBI	Europäischer Broiler Index
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FiBL	Forschungsinstitut für biologischen Landbau
FMN	Flavinmononukleotid
GVO	Gentechnisch veränderte Organismen
HSWT	Hochschule Weihenstephan-Triesdorf
IOFC	Erlös nach Futterkosten (engl. Income over feed costs)
LM	Lebendmasse
LS Means	Least squares Mittelwerte
LVFZ	Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum für Geflügel- und Kleintierhaltung Kitzingen
ME	Umsetzbare Energie
OS	Originalsubstanz
RP	Regierungspräsidium
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SG	Schlachtgewicht
TS	Trockensubstanz
VK	Variationskoeffizient
XP	Rohprotein

I. Einführung

Das Projekt ist ein Verbundprojekt der Projektpartner FiBL Deutschland e.V. (Projektleitung) und der Agrano GmbH & Co. KG. Ziel war, es ein Produkt mit einem hohen natürlichen Riboflavin-Gehalt für die ökologische Geflügelfütterung zu entwickeln und in Fütterungsversuchen an Masthähnchen, Mastputen, Legehennen und Masthähnchen-Elterntieren zu testen.

I.1 Gegenstand des Vorhabens

Die Versorgung von monogastrischen Nutztieren mit Riboflavin (Vitamin B₂) findet aktuell über Supplementierung des Vitamins aus Herstellung mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen statt. Ein Verzicht auf diese Produkte unter Berücksichtigung einer 100%-Bio-Fütterung mit ausschließlich nach den Vorgaben der EU-Verordnungen (VO (EG) Nr. 834/2007 und Nr. 889/2008) erzeugten Futtermitteln stellt die Rationsgestaltung für ökologisch erzeugte Monogastrier vor große Herausforderungen, da der Bedarf mit nativen Gehalten in Getreide und Leguminosen selten erreicht wird (Witten and Aulrich, 2018, 2019). Für die Aufwertung des Riboflavin-Gehaltes von Öko-Futtermischungen sind daher Alternativen in Form von ökokonformen und Riboflavin-reichen Futtermitteln notwendig.

Gegenstand des Forschungsvorhabens war daher die Entwicklung eines Verfahrens zur Produktion eines Riboflavin-reichen Einzelfuttermittels aus ökologischer Erzeugung, das den ökologischen Landbau von der Supplementierung mit konventionellen Produkten, die auf der Verwendung von gentechnisch modifizierten Mikroorganismen basieren, unabhängig macht.

Hierbei muss insbesondere berücksichtigt werden, dass die für den Öko-Landbau geltenden futtermittelrechtlichen Begrenzungen im Bereich der Eier und Geflügelproduktion aufgrund der hohen Ansprüche der Tiere stark angebotsbegrenzend wirken. Das Programm des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer im ökologischen Landbau führt daher im Bereich Tiergerechter Haltungssysteme auf, dass Forschungs- und Entwicklungsvorhaben, die zur „Optimierung der Fütterungs- und Haltungsverfahren (z.B. Optimierung von Futterrationen verschiedener Tierarten) unter den Bedingungen des ökologischen Landbaus“ beitragen im Rahmen des BÖLN gefördert werden sollen (Richtlinie zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer im ökologischen Landbau vom 4. April 2016).

Das vorliegende Projekt nimmt Bezug auf diese Richtlinie und gibt der Praxis Möglichkeiten an die Hand, die Futterrationen von Geflügel hinsichtlich einer ausgewogenen Riboflavin-Versorgung durch ökologische Futtermittel zu optimieren.

I.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projektes

I.2.1 Projektteil Agrano GmbH & Co. KG

Die Zielsetzung des Projektes war, ein stark Riboflavin-haltiges Einzelfuttermittel zu entwickeln. Dieses Einzelfuttermittel sollte mit biotechnologischen Methoden, durch die Fermentation mit Mikroorganismen, gewonnen werden. Die eingesetzten Substrate und die Produktionsabläufe sollten dabei so gewählt werden, dass das Futtermittel öko-zertifiziert werden kann.

Für das Erreichen der Zielstellung wurden folgende Aufgaben bearbeitet:

- Identifizierung eines geeigneten Mikroorganismus zur Produktion von Riboflavin.

- Identifizierung von geeigneten Bio-Substraten zum Einsatz als Fermentationsrohstoff.
- Entwicklung eines Fermentationsverfahrens für die Produktion einer Riboflavin-reichen Fermentationssuspension mit einem Mindestgehalt von 200 mg/kg an Riboflavin.
- Übertragen des Fermentationsverfahrens vom Labormaßstab in den Pilotmaßstab.
- Entwicklung einer anwenderfreundlichen Formulierung für das Fermentationsprodukt.
- Lagertests im Hinblick auf Produktstabilität.

I.2.2 Projektteil FiBL Deutschland e.V.

Ziel der Fütterungsversuche war es, für die am stärksten von Symptomen des Riboflavin-Mangels betroffenen Geflügelkategorien, nämlich Masttiere (Masthühner, Mastputen) und Elterntiere (bzw. indirekt Embryonen) sowie Legehennen zu evaluieren, ob das entwickelte Riboflavin-Produkt für eine ausreichende Versorgung über das Mischfutter geeignet ist. Die Äquivalenz des Produktes zu dem bisher Eingesetzten sollte überprüft werden, indem identische Riboflavin-Konzentrationen angesetzt wurden. Durch weitere Vergleichsfutter mit abgestuften Konzentrationen des Riboflavin-Produktes wurde ermittelt, ob es bei niedrigerer Dosierung unter Bedingungen ökologischer Fütterung Mangelsymptome auftreten. Damit war neben der Evaluierung des Produktes auch ein Wissenszuwachs im Sinne einer Aktualisierung von wissenschaftlichen Daten zum Riboflavin-Bedarf im ökologischen Landbau zu erwarten.

Im Projektteil wurden die folgenden Ziele verfolgt:

- Erprobung des Einsatzes dieses neuen Riboflavin-Produktes in der Fütterung von Masthähnchen, Masthähnchen-Elterntieren, Mastputen und Legehennen im Rahmen von Fütterungsversuchen.
- Intensivierung der Wissensaufbereitung und des Wissenstransfers, um eine schnelle Implementierung in der Praxis zu gewährleisten.

I.3 Planung und Ablauf des Projektes

Der Projektteil der Agrano GmbH & Co. KG bestand darin ein fermentativ hergestelltes Produkt zu entwickeln welches den Bio-Standards entspricht und einen hohen natürlichen Gehalt an Riboflavin besitzt. Des Weiteren wurden Einmischversuche des Produkts in Bio-Mischfutter an einer Futtermühle begleitet.

Zu Beginn wurden Labor und Technikumsversuche durchgeführt. Diese waren notwendig, um im Kleinmaßstab mehrere Versuche zur Identifizierung eines geeigneten Mikroorganismus und zur Formulierung einer Medienrezeptur durchzuführen. Für die Optimierung der Produktionsausbeuten wurden die Technikumsversuche für weitere drei Monate verlängert.

Ziel der Pilotversuche war es, zu belegen, dass die Produktionsmethode auch auf einen größeren Maßstab übertragen werden kann. Zudem wurden die bei den Pilotversuchen produzierten Chargen auch als Material für die geplanten Fütterungs- und Trocknungsversuche verwendet. Die Pilotversuche wurden zwei Monate später als geplant gestartet. Grund dafür war die Verlängerung von Optimierungsversuchen im Technikumsmaßstab.

In der Vorhabensbeschreibung wurde eine Aufarbeitung der flüssigen Fermentationssuspension zu einem trockenen Produkt als Zielsetzung angegeben. Diese Trocknungsversuche wurden zunächst aufgrund folgender Punkte aus dem Projektplan entfernt:

- Der Gehalt an Riboflavin in der Fermentationssuspension ist mit > 400 mg/kg hoch genug, sodass nur geringe Mengen von 1-2 % in das Mischfutter eingebracht werden müssen. Daher ist eine Aufkonzentration der Flüssigkeit nicht zwingend erforderlich.
- Nach Rücksprache mit der Kaisermühle Arnstein-Gänheim besitzen Futtermühlen Sprühvorrichtungen zum Dosieren von Flüssigkeiten. Durch die Flüssigdosierung sollte sich im Vergleich zu einer Trockendosierung eine gleichmäßigere Verteilung des Produkts im Mischfutter erzielen lassen. Zusätzlich wird durch das Aufsprühen der Flüssigkeit eine Entmischung der Produktkomponente im Mischfutter vermieden.
- Durch die direkte Verwendung der Fermentations-Suspension entfällt ein zusätzlicher Misch- und Trocknungsschritt mit den entsprechenden Kosten und möglichen Verlusten an Riboflavin. Die Gesamtkosten für das Endprodukt lassen sich dadurch deutlich senken.

Da im Laufe des Projektes das öffentliche Interesse an dem entwickelten flüssigen Produkt stark anstieg, wurde ein vermehrter Austausch der Projektbeteiligten mit Mischfutterherstellern und deren Verbänden vorangetrieben. Durch diesen Austausch wurde deutlich, dass ein flüssiges Produkt nur sehr schwer in Futtermühlen eingesetzt werden kann. Zum einen ist die Haltbarkeit eines flüssigen, nährstoffreichen Produktes im Gegensatz zu einem Pulver stark herabgesetzt. Durch den Einsatz von 1-2 % Flüssigkeit in Mischfuttern wird deren Wasseraktivität und damit auch die Anfälligkeit für mikrobiellen Verderb erhöht. Zudem ist der Einsatz von Flüssigkeiten sowohl bei der Dosierung in Mischfutter und der Handhabung auf den Anlagen problematisch. Aufgrund dieser Tatsachen wurde das Trocknungsvorhaben sowie Lagertest des damit hergestellten Pulvers wieder in das Projekt aufgenommen.

Zunächst wurden dafür, im 1. Quartal 2018 Trocknungsversuche mit Trägermaterialien durchgeführt. Im weiteren Verlauf (1./2. Quartal 2019) wurden Sprüh- und Walzentrocknungsversuche durchgeführt.

Die Lagerversuche der flüssigen und trockenen Produktchargen schlossen sich an Produktionen im Technikums- und Pilotmaßstab, sowie die Trocknungsversuche an.

Vor der Durchführung von Fütterungsversuchen mit dem entwickelten Suspensions- und Trockenprodukt wurden im zweiten Projektteil des FiBL Deutschland e.V. Vorversuche an Legehennen und Masthühner durchgeführt, um die grundsätzliche Akzeptanz von EcoVit R zu untersuchen. Im Rahmen von Fütterungsversuchen wurde dabei zunächst der Einsatz der Fermentationssuspension an Masthähnchen und Mastbroiler-Elterntieren untersucht. In Folge einer Weiterentwicklung des von der Firma Agrano GmbH & Co. KG entwickelten Produktes EcoVit R als Trockenprodukt wurde dieses in der Fütterung von Masthähnchen, Mastputen, Legehennen und Mastbroiler-Elterntieren erprobt.

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

2.1 Grundlagen der Riboflavin-Produktion

Es existieren zahlreiche wissenschaftliche Publikationen über die Überproduktion von Riboflavin durch Mikroorganismen. Veröffentlichungen, die sich mit der Produktion von Riboflavin durch Hefen und Hefe-Pilze auseinandersetzen datieren bis in das Jahr 1945 zurück. So konnten Hefen der Gattung *Candida/Debaryomyces* und die Hefe-Pilze *Eremothecium ashbii* und *Ashbya gossypii* als natürliche Riboflavin-Überproduzenten identifiziert werden (Tanner et al. 1945, Levine et al. 1949, Pfeifer et al. 1950, Malzahn et al. 1956).

Die chemische Produktion von Riboflavin, die über 50 Jahre lang praktiziert wurde, ist innerhalb von 15 Jahren durch biotechnologische Verfahren ersetzt worden. So betrug der Anteil an biotechnologisch

hergestelltem Riboflavin im Jahre 1990 erst 5 %, im Jahre 2002 hingegen schon 75 %. Das biotechnologische Herstellungsverfahren wurde über die Jahre aufgrund der Errungenschaften im Metabolic Engineering und der Bioprozesstechnologie immer wirtschaftlicher (Schwechheimer et al. 2016).

Erste großtechnische Produktionen von Riboflavin über die Fermentation mit Mikroorganismen wurden in den 1990er Jahren durch die Firma BASF mit *A. gossypii* realisiert. Im Jahr 2002 begann das Unternehmen Roche Riboflavin mit einem gentechnisch verändertem *Bacillus subtilis* zu produzieren. Das Unternehmen DSM übernahm diesen Prozess ein Jahr später. Die Herstellung von Riboflavin mit der Hefe *Candida famata* durch das Unternehmen ADM wurde im Jahr 2004 eingestellt, da der dabei verwendete mutierte Stamm eine Instabilität aufweist und dazu neigt zu Stämmen zu degenerieren, die keine Riboflavin-Überproduktion aufweisen. Heute werden im Gegensatz zu den früher verwendeten Methoden der klassischen Selektion, gentechnisch veränderte Stämme dieser Mikroorganismen für die industrielle Produktion von Riboflavin verwendet (Abbas und Sibirny 2011).

2.2 Gesetzliche Regelungen zur Geflügelfütterung in der EU-Öko-Verordnung

Die Verordnung 2018/848 der EU vom 30. Mai 2018 über die ökologische Produktion und Kennzeichnung ökologischer Erzeugnisse beinhaltet alle Anforderungen, Vorschriften und Verbote in Bezug auf die ökologische Landwirtschaft. Die Verordnung gilt ab 1. Januar 2021 und löst die vorherige Verordnung (VO (EG) 834/2007) ab. Die Nutztierfütterung der ökologischen Landwirtschaft unterliegt zahlreichen Vorgaben, so werden die Herkunft der verwendeten Einzelfuttermittel, die Art der Verarbeitungsprozesse oder der Einsatz gentechnisch veränderter Organismen (GVO) geregelt. Im Folgenden werden Vorschriften und Verbote der ökologischen Fütterung aus der neuen Verordnung näher beschrieben.

Der Artikel 8 betrifft die Grundsätze der Verarbeitung ökologischer Futtermittel, wonach ein biologisches Futtermittel aus Einzelfuttermitteln bestehen muss, die wiederum aus ökologischer Herstellung stammen. Laut Artikel 24 sind jedoch einige Ausnahmen zulässig: Stehen ökologisch erzeugte Einzelfuttermittel nicht in entsprechender Qualität oder ausreichender Menge zur Verfügung oder existieren keine Alternativen, kann auf nicht ökologisch hergestellte Futtermittel zurückgegriffen werden. Dies gilt ebenso für Futtermittelzusatzstoffe und Verarbeitungshilfsstoffe, die ohnehin nur in geringen Mengen im Futtermittel genutzt werden sollen. Eingesetzt werden sollen sie lediglich, wenn dies erforderlich ist oder die Stoffe einem bestimmten Ernährungszweck dienen. Wie für alle Futtermittel, gilt auch für Futtermittelzusatzstoffe, dass biologische, mechanische oder physikalische Verarbeitungsschritte präferiert werden. Chemisch-synthetische Lösungsmittel sind zur Herstellung oder Weiterverarbeitung nicht gestattet.

Der Artikel 24 akzeptiert des Weiteren den Einsatz von Spurenelementen, Vitaminen oder Provitaminen nicht-ökologischer Qualität, sollten die ökologischen Alternativen nicht verfügbar oder in entsprechender Menge oder Qualität zur Verfügung stehen. Es bedarf jedoch einer individuellen Zulassung dieser Stoffe durch die Kommission. Gesetzlich geregelt ist auch, dass Hefen als Futtermittel verwendet werden dürfen, sofern sie auf ökologischem Substrat gewachsen sind.

Der Einsatz von gentechnisch veränderten Organismen ist in der ökologischen Landwirtschaft verboten. Genauer: Es dürfen keine GVO oder durch GVO hergestellte Erzeugnisse in Lebens- oder Futtermitteln Verwendung finden. Bis zur Gültigkeit der neuen EU-Öko-Verordnung (VO (EU) 848/2018) am 1. Januar 2021, ist es laut der vorherigen Verordnung (VO (EG) 834/2007) erlaubt, eine Ausnahmeregelung zu erlassen. Durch diese Flexibilisierungsregelung können Futtermittelzusatzstoffe, die durch GVO hergestellt werden und essentiell für die Tierernährung sind und am Markt nicht unter anderen

Bedingungen zur Verfügung stehen, im ökologischen Futter verwendet werden (VO (EG) Nr. 834/2007 und Nr. 848/2018).

Seit August 2018 ist die Lieferung von GVO-freiem Riboflavin problematisch, da der letzte große Riboflavin-Produzent die Herstellung auf GVO umgestellt hat (Stellungnahme Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL) vom 24.04.2019), weshalb auf die oben beschriebene Flexibilisierungsregelung zurückgegriffen werden muss.

2.3 Vitamine – Funktion und Bedarf

Vitamine sind essenziell für den tierischen und menschlichen Metabolismus. Eine Zufuhr über die Nahrung bzw. das Futter ist unabdingbar, allerdings können einige Stoffe über Vorstufen im Körper synthetisiert werden. Anders als der Mensch sind einige Tiere in der Lage bestimmte Vitamine selbstständig zu synthetisieren. Ein solches Vitamin stellt die Ascorbinsäure (Vitamin C) dar. Lediglich Menschen, Primaten und Meerschweinchen müssen Vitamin C über die Nahrung zu sich nehmen. Vitamine dienen dem Körper nicht als Energielieferant oder Baustein für Gewebe. Eine Vielzahl der Vitamine dient als Cofaktor für Enzyme (viele B-Vitamine) oder hat hormonähnliche Eigenschaften (Vitamin D). Neben diesen Fähigkeiten weisen Vitamine noch weitere gesundheitsrelevante Eigenschaften, wie etwa die Wirkung als Antioxidans, auf. Eine Unter-, wie auch Überversorgung (Hypo- bzw. Hypervitaminose) tritt beim Menschen mit ausgewogener Ernährung sehr selten auf. Bei monogastrischen Nutztieren kann ein Defizit, ohne Beimischung bestimmter notwendiger Vitamine, auftreten und zu Krankheiten und Beeinträchtigungen führen (Tang *et al.*, 2017; Bellof and Granz, 2018; Witten and Aulrich, 2019).

Gegliedert werden Vitamine in eine fett- und eine wasserlösliche Fraktion. Der fettlöslichen gehören die Vitamine A, E, D und K an, der wasserlöslichen die übrigen (Vitamin C, alle B-Vitamine) der insgesamt 13 Vitamine. Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen unter anderem in der Speicherkapazität des menschlichen bzw. tierischen Körpers. Fettlösliche Vitamine können im Körper gut gespeichert werden, die Depots befinden sich in der Leber und im Fettgewebe. Eine Hypervitaminose kann aufgrund der geringen Ausscheidung entstehen.

Wasserlösliche Vitamine können im Tierkörper kaum gespeichert werden und müssen deshalb kontinuierlich mit der Nahrung zugeführt werden. Um in der praktischen Tierhaltung deshalb Mängeln vorzubeugen, sind für Geflügelmischungen nach Normtyp Mindestmengen an Riboflavin vorgeschrieben (Bellof and Granz, 2018). Sollte ein Überschuss an B-Vitaminen vorliegen, wird dieser über Harn oder Kot abgegeben. Auch in der Haltbarkeit unterscheiden sich die beiden Gruppen: Sind die fettlöslichen Vitamine empfindlich gegen Oxidation, Wärme und UV-Licht, so sind wasserlösliche Vitamine überwiegend stabil und relativ unempfindlich gegenüber Umwelteinflüssen (Baltes and Matissek, 2011).

Im Folgenden wird die Funktion des B-Vitamins Riboflavin näher dargestellt. Die Strukturformel dieses Vitamins ist in Abbildung 1 zu sehen. Die Summenformel von Riboflavin ist $C_{17}H_{20}N_4O_6$. Riboflavin besteht aus drei Formen: dem freien Riboflavin und den zwei Coenzymderivaten Flavinmononucleotid (FMN) und Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD). Die Autoren Kirchgeßner *et al.* (2014) beschreiben weiterhin, dass in Leber, Niere und Herz eine solche coenzymatische Umwandlung von Riboflavin zu FMN und FAD in größerem Umfang stattfindet. Nicht zuletzt deshalb sei der Gehalt von Riboflavin in diesen Organen besonders hoch. Eine Überversorgung und eine damit einhergehende Hypervitaminose mit Vitamin B₂ sind aufgrund der schnellen Ausscheidung von wasserlöslichen Vitaminen nicht zu erwarten. Im tierischen Stoffwechsel spielt Vitamin B₂ eine bedeutende Rolle. Vitamin B₂ ist ein Coenzym der Flavinenzyme. Es liefert die Vorstufe für die Enzyme der Atmungskette und ist somit an der Umwandlung von Nährstoffen in Energie beteiligt. Riboflavin-Mangel bewirkt bei wachsenden Küken Wachstumsdepressionen, schlechte Futtermittelverwertung und geringe N-Retention

(NRC, 1994). Weiterhin führt eine starke Unterversorgung zu einer sogenannten Curled-Toe-Paralysis durch Nervendegeneration. Die Folge sind Zehenverkrümmungen, Verdickungen der Sprunggelenke und hängende Flügel aufgrund von Muskelatrophie. Zusätzlich können Entzündungen und Krustenbildung im Schnabelwinkel, Augenlidern und Haut auftreten (Hafez and Jodas, 1997).

Riboflavin in seiner reinen Form ist ein kristallines, geruchloses Pulver (Flores-Garcia, 1992). Das gelb bis orangegelbe, bitter schmeckende Riboflavin ist auch als Lebensmittelfarbstoff in der Humanernährung zugelassen und hat die europäischen Zulassungsnummer E 101 (Turck et al., 2017).

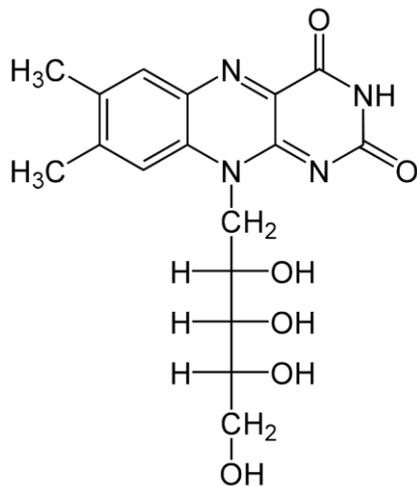


Abbildung 1: Strukturformel von Riboflavin

(Quelle: Wikipedia)

Die Vitaminversorgung der Nutztiere kann in Minimalbedarf, Optimalbedarf und Versorgungsempfehlungen unterschieden werden. Der Minimalbedarf verhindert das Auftreten von speziellen Mangelsymptomen. Unter dem Optimalbedarf versteht man die Menge eines Vitamins, bei der ein optimaler Ablauf der physiologischen Stoffwechselfvorgänge, bezogen auf bestimmte Lebensmasse und Leistung, erreicht wird. Die Versorgungsempfehlung liegt über dem Optimalbedarf und beinhaltet aus verschiedenen Gründen einen Sicherheitszuschlag. So kann sichergestellt werden, dass in der praktischen Anwendung der Vitaminbedarf der Nutztiere in jedem Fall gedeckt ist (Roth-Maier und Kirchgessner, 1977; GfE 2000).

Die Schwierigkeit bei den wasserlöslichen Vitaminen ist, dass diese Vitamine - im Gegensatz zu den Fettlöslichen - im Tierkörper kaum gespeichert werden können und deshalb in den Rationen jeden Tag enthalten sein müssen. Um in der Tierhaltung deshalb Mängeln vorzubeugen, sind für Geflügelmischungen nach Normtyp Mindestmengen an Riboflavin vorgeschrieben (Bellof and Granz, 2018).

Die Ermittlung des Optimalbedarfs wasserlöslicher Vitamine erweist sich als schwierig. Häufig werden Dosis-Wirkung-Versuche zur Bedarfsbestimmung verwendet. Die untersuchten Parameter sind relativ unspezifisch. Wachstum, Futtermittelverwertung oder Legeleistung geben Auskunft über Mangel oder Zusatzleistungen ab bestimmten Niveaus, ein genauer Bedarf ist aber nur schwer zu beurteilen (GfE, 2000).

Tabelle 1 gibt einen Überblick über Versorgungsempfehlungen für verschiedene Geflügelarten. Bedarfswerte schwanken für Mastbroiler von 2,6 mg/kg (Chung and Baker, 1990) und 5,0 mg/kg (Olkowski and Classen, 1998; Leeson and Summers, 2005). Der Bedarf von Elterntiere liegt höher als

der von Legehennen. Mastputen haben in den ersten Lebenswochen im Vergleich zu Masthähnchen einen höheren Bedarf von mindestens 3,9 mg/kg (NRC, 1994) bzw. 4,0 mg/kg (GfE, 2004)

Zu berücksichtigen ist hierbei, dass die Ableitungen der Bedarfswerte veraltet und somit nicht an die aktuellen Produktionsbedingungen angepasst sind. Es wird daher darauf hingewiesen, dass es einer höheren Dosis Riboflavin bedarf (Deyhim et al., 1992), da die Züchtung des Mastgeflügels in den vergangenen Jahren stark fortgeschritten ist (Leeson, 2007). Die folgenden Zahlen aus der konventionellen Broilerhaltung verdeutlichen dies: Das Gewicht der Tiere nach 35 Tagen Mast lag 1995 bei 2,01 kg bei einer Futterverwertung von 2,08 kg/kg. Im Jahre 2010 wies ein Masthähnchen nach 35 Tagen Mast 2,44 kg Lebendmasse bei einer Futterverwertung von 1,5 kg/kg auf (Siegel, 2014).

Für den ökologischen Landbau liegen keine genauen Bedarfswerte vor, da die Tierleistungen im Vergleich zur konventionellen Produktion zwar vermindert sind, größtenteils aber auch für die ökologische Produktion Genetiken verwendet werden, die unter konventionellen Produktionsbedingungen selektiert wurden.

Um Mangelsituationen zu vermeiden, werden in der ökologischen wie konventionellen Praxis nach den Empfehlungen der Zuchtunternehmen in der Regel unabhängig von der Geflügelart die zwei- bis vierfachen Riboflavin-Gehalte der empfohlenen Bedarfswerte supplementiert (Aviagen, 2008; Hubbard, 2017; Lohmann Tierzucht, 2019). Diese Sicherheitszuschläge berücksichtigen, dass sich der Bedarf in Abhängigkeit der Umweltbedingungen ändert und die Potenz der Vitamine von deren Lagerbedingungen abhängt (Hubbard, 2017).

Tabelle 1: Vergleich der Empfehlungen zur Riboflavin-Versorgung von Geflügel verschiedener Autoren

Tiergruppe	Riboflavin (in mg/kg Alleinfutter)
Mastbroiler	2,6 (Chung and Baker, 1990); 2,9 (GfE, 2004); 3,0 (Roth-Maier and Kirchgeßner, 1997); 3,3 (1.-6. Lebenswoche), 2,9 (6.-8. Lebenswoche) (NRC, 1994); 3,6 (Ruiz and Harms, 1988); 5,0 (Olkowski and Classen, 1998; Leeson and Summers, 2005)
Elterntierhennen	3,6 (NRC, 1994); 10-14 (Jeroch, Simon and Zentek, 2013)
Legehennen	2,5 (NRC, 1994, GfE, 1999)
Legehennen-Starter	3,5 (NRC, 1994)
Mastpute	4,0 (Phase 1+2), 3,6 (Phase 3-5) (GfE, 2004); 3,9 (Phase 1), 3,5 (Phase 2), 2,9 (Phase 3+4), 2,4 (Phase 5) (NRC, 1994)

2.4 Riboflavin-Gehalte ausgewählter Futtermittel

Eine bedarfsgerechte Vitaminversorgung landwirtschaftlicher Nutztiere kann insbesondere bei intensiven Haltungsformen aus den Gehalten der Rationskomponenten nicht gewährleistet werden. "In der praktischen Geflügelfütterung weisen die einzelnen Futterkomponenten oftmals sehr geringe oder schwankende native Gehalte an Vitaminen des B-Komplexes auf, weswegen häufig eine Vitaminsupplementierung durchzuführen ist." (GfE, 1999). Im Folgenden werden daher die nativen Riboflavin-Gehalte der in Frage kommenden Futterkomponenten dargestellt.

In Abbildung 2 sind die Riboflavin-Gehalte einiger Einzelfuttermittel dargestellt. Wie sich zeigt, enthalten die meisten Futtermittel sehr geringe Konzentrationen an Riboflavin. Insbesondere die üblichen Hauptkomponenten des Geflügelfutters erweisen sich als besonders Riboflavin-arm.

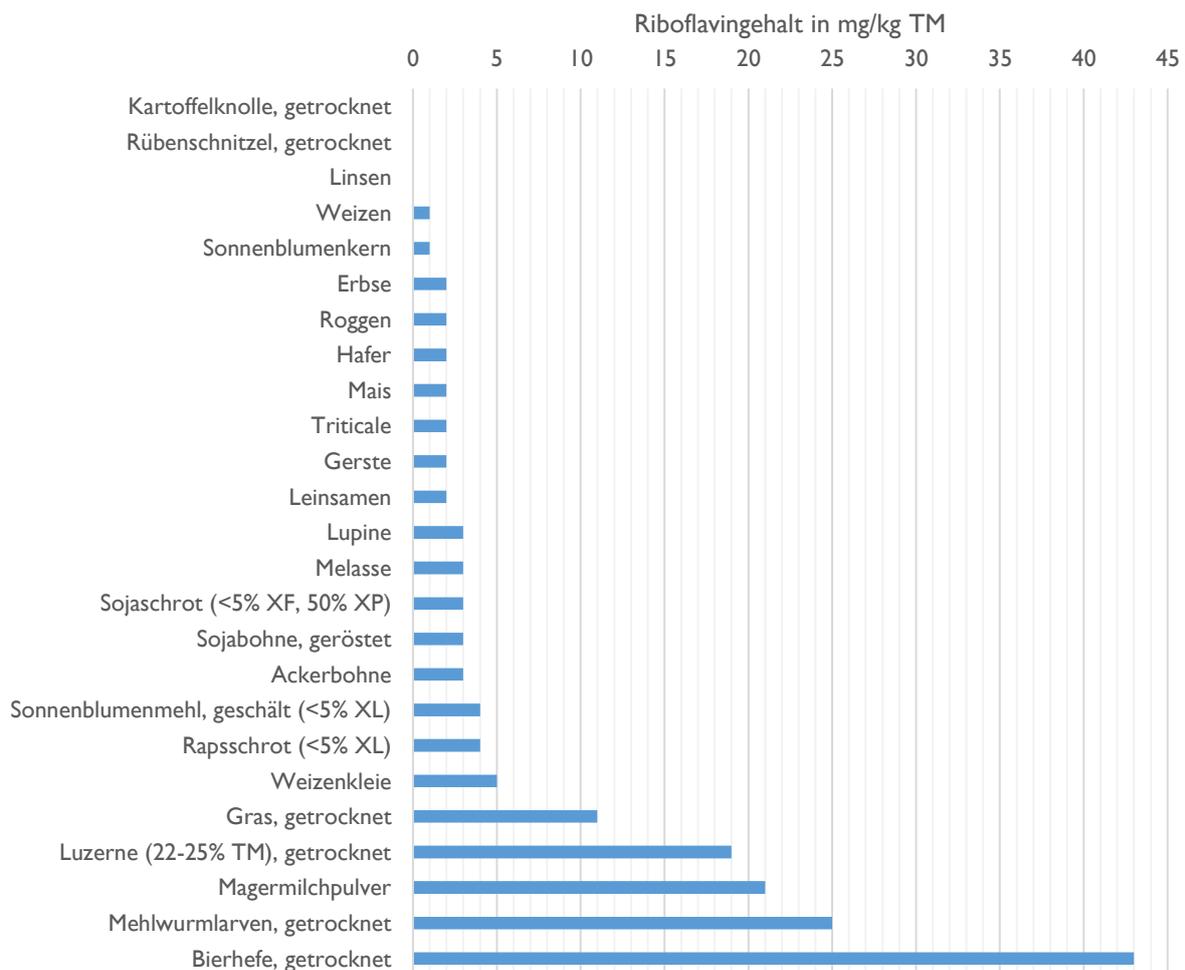


Abbildung 2: Riboflavin-Gehalte in der Trockensubstanz ausgewählter Futtermittel

(Eigene Darstellung nach INRA (2017))

Vergleichbare Werte für verschiedene Getreide und Körnerleguminosen wurden auch im Screening von mehr als 500 Proben aus Sortenversuchen in Deutschland analysiert (**Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Beispielrationen für Starter-, Legehennen- und Masthähnchen auf Basis der analysierten Werten erreichten nicht die für eine ausreichende Versorgung angegebenen Werte (Witten and Aulrich, 2019). In der Studie konnten erst durch Einsatz der Futtermittel Bierhefe und Grünmehl

mit hohen nativen Riboflavin-Gehalten im Futter für Masthühner und Legehennen die Empfehlungen erreicht werden. Der Einbezug von Kleegrassilage reichte nicht aus. Im Starterfutter konnten die Empfehlungen durch Einsatz der genannten Futtermittel nicht erreicht werden.

Tabelle 2: Riboflavin-Gehalte (in mg/kg Trockensubstanz) in Getreide und Körnerleguminosen
(nach Witten and Aulrich, 2018)

Getreide		n	Riboflavin-Gehalt
Winterweizen (<i>T. aestivum</i> L.)	Mittelwert	106	0,74 ± 0,06 ^a
	Spannweite		0,62 – 0,89
Sommerweizen (<i>T. aestivum</i> L.)	Mittelwert	45	0,85 ± 0,12 ^b
	Spannweite		0,69 – 1,19
Winterroggen (<i>S. cereale</i> L.)	Mittelwert	106	1,06 ± 0,10 ^d
	Spannweite		0,84 – 1,28
Wintertriticale (<i>Triticosecale</i>)	Mittelwert	107	0,91 ± 0,11 ^{bc}
	Spannweite		0,65 – 1,17
Wintergerste (<i>H. vulgare</i> L.)	Mittelwert	30	0,80 ± 0,11 ^{abc}
	Spannweite		0,65 – 1,17
Sommergerste (<i>H. vulgare</i> L.)	Mittelwert	66	0,94 ± 0,10 ^c
	Spannweite		0,79 – 1,22
Hafer (<i>A. sativa</i> L.)	Mittelwert	105	1,00 ± 0,15 ^{cd}
	Spannweite		0,71 – 1,54
Leguminosen			
Futtererbse (<i>P. sativum</i> L.)	Mittelwert	87	1,73 ± 0,22 ^a
	Spannweite		1,00 – 2,28
Ackerbohne (<i>V. faba</i> L.)	Mittelwert	82	2,75 ± 0,36 ^c
	Spannweite		2,13 – 3,84
Blaue Lupine (<i>L. angustifolius</i> L.)	Mittelwert	110	2,39 ± 0,25 ^b
	Spannweite		1,94 – 3,05

Eine weitere Möglichkeit die Riboflavin-Aufnahme zu erhöhen, könnte, in Anlehnung an die ausreichende Versorgung mit Aminosäuren in der ökologischen Tierhaltung, die Senkung des

Energiewerts des Futters darstellen. Der Gehalt der Umsetzbaren Energie (ME) (gemeint ist in diesem Bericht die Größe AMEN (scheinbare Umsetzbare Energie, Stickstoff-korrigiert)) wird gesenkt und das Geflügel nimmt mehr Futter zu sich, die Futterraufnahme steigt. Ursächlich ist die Eigenschaft des Geflügels die Futterraufnahme nach der aufgenommenen Energie zu steuern. Dieses Konzept erweist sich als nützlich, wenn Eiweißfuttermittel nicht in ausreichender Menge in Bio-Qualität verfügbar sind und dennoch genügend essenzielle Aminosäuren aufgenommen werden müssen. Durch die erhöhte Futterraufnahme erhöht sich die XP-Aufnahme, wodurch der Bedarf essentieller Aminosäuren gedeckt wird (Bellof und Schmidt 2007). Dieses Fütterungskonzept könnte für die Versorgung der Nutztiere mit Vitaminen ebenfalls zielführend sein, hierzu bedarf es aber noch genauerer Forschung.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass es mit den in der ökologischen Praxis aktuell verwendeten Einzelfutterkomponenten nicht flächendeckend möglich ist die in Tabelle 1 beschriebenen Bedarfsempfehlungen sicherzustellen. Herstellung von konventionellem Riboflavin

Sowohl chemische als auch fermentative Verfahren eignen sich zur Herstellung von Riboflavin. Die fermentative Herstellung von Riboflavin mithilfe von gentechnisch veränderten Mikroorganismen ist inzwischen weltweit Standard. Alle großen Vitamin B₂-Hersteller haben mittlerweile biotechnische Verfahren entwickelt, bei denen sie verschiedene gentechnisch optimierte Produktionsstämme, von Bakterien, Pilzen oder Hefen nutzen. Einige dieser Mikroorganismen können von Natur aus Vitamin B₂ bilden. Durch das Ansetzen geeigneter Promotoren, die die Bildung von Enzymen, die an der natürlichen Vitaminsynthese beteiligt sind, regulieren, kann der Stoffwechselweg, der Vitamin B₂ synthetisiert, optimiert und die hergestellte Menge um ein Vielfaches gesteigert werden (Turck *et al.*, 2017).

Die chemische Synthese nutzt als Ausgangsstoff D-Ribose, welche über vier Schritte zu Riboflavin umgewandelt wird. Die chemische Synthese lässt es zu, ohne gentechnische Verfahren Riboflavin herzustellen. Seit den 1930er Jahren fand die chemische Synthese Anwendung. Aufgrund geringerer Kosten, Energie- und Müllersparungen, sowie der Möglichkeit der Verwendung nachwachsender Rohstoffe (Zucker oder Pflanzenöl), verdrängte die Riboflavin-Herstellung durch Mikroorganismen die chemische Herstellung (Kurth *et al.* 1996; Stahmann *et al.* 2000; Mack und Grill 2006; Revuelta *et al.* 2017).

Die Riboflavin-Herstellung durch Fermentation wird in der Regel mithilfe des Bakteriums *Bacillus subtilis* oder dem Hefe-Pilz *Ashbya gossypii* durchgeführt, die Hefe *Candida famata* ist ebenfalls in der Lage überdurchschnittliche Mengen Riboflavin herzustellen (Stahmann *et al.* 2000). Um die Riboflavin-Produktion der Mikroorganismen zu steigern, wurde ihr Genom verändert. Zunächst wurde mit einer Kombination gearbeitet: das Genom der Organismen wurde zum einen mittels Mutagenese beeinflusst, zum anderen durch gezielte Genmanipulation. Anschließend wurden Stämme mit den gewünschten Eigenschaften isoliert und die Mikroorganismen in der industriellen Riboflavin-Herstellung genutzt. Mit fortschreitenden gentechnischen Möglichkeiten konnten die Mikroorganismen, den Anforderungen entsprechend, gentechnisch weiter verändert werden (Kato und Park 2012). Zu den vorgenommenen Veränderungen gehören z.B. das Ausschalten der Riboflavin-Einlagerung in die Vakuole – das Endprodukt wird extrazellulär sekretiert und kann dadurch einfacher aufgereinigt werden (Förster *et al.* 1999). Daneben konnte über eine Anpassung der Stoffwechselzyklen z.B. Acetyl-CoA effizienter genutzt werden (Stahmann *et al.* 2000). Ein genetisch veränderter Stoffwechsel von *Ashbya gossypii* ist in Abbildung 3 dargestellt. Der Nutzen der genetischen Veränderung ist die Steigerung der produzierten Riboflavin-Menge. So konnte schon im Jahr 1989 15 g Riboflavin/Liter Mikroorganismenkultur hergestellt werden (Bigelis 1989). Heutige Leistungen sind nicht publiziert, es ist aber von einer deutlichen Steigerung dieser Leistung auszugehen (Revuelta *et al.* 2017).

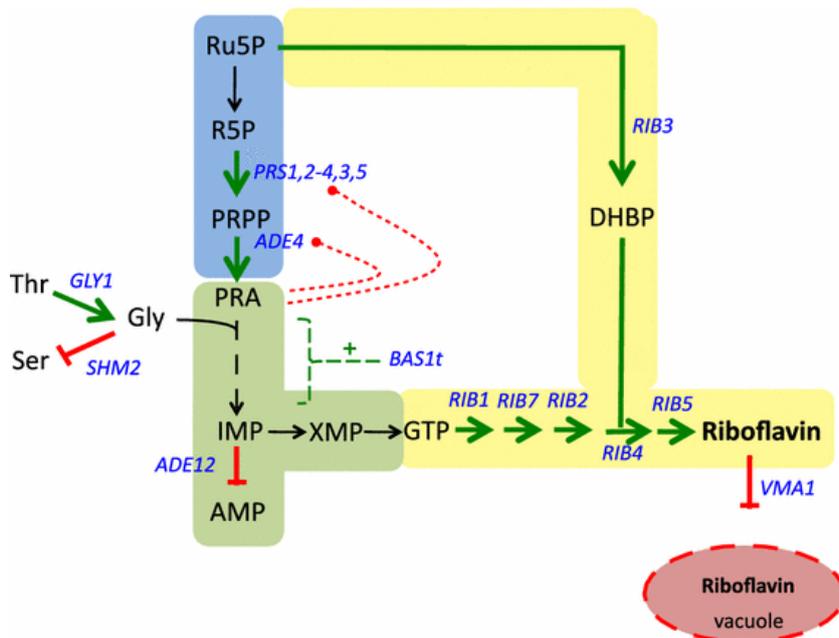


Abbildung 3: Stoffwechselforgänge eines genetisch veränderten *Ashbya gossypii* Hefe-Pilzes

Grüne Pfeile: Genüberexpression; Rote Linien: Genausschaltung oder Unterexpression; Rote unterbrochene Linien: aufgehobener Mechanismus, das Endprodukt wird gehemmt; Grüne unterbrochene Linien: Transkriptionsaktivierung der Purinbiosynthesegene durch verschiedene verkürzte Transkriptionsfaktoren (Quelle: Revuelta et al. 2017).

Wie in Kapitel 2.2 thematisiert ist es in der ökologischen Landwirtschaft nicht erlaubt GVO oder durch GVO hergestellte Erzeugnisse zu verwenden. Begründet wird dies durch die Gefahr der Verbreitung von Antibiotikaresistenzen. In die GVO werden teilweise Gene eingesetzt, die die Mikroorganismen resistent gegen einige Antibiotika machen (Rychen et al. 2018).

2.5 Leistungsauswirkungen von Vitaminen auf Nutzgeflügel

Bezüglich der Leistungsauswirkungen einer Vitaminübersversorgung, besonders aber einer Vitaminmangelversorgung, existieren wenige Quellen. Gleichzeitig erweist sich die vorhandene Literatur als relativ alt, viele Arbeiten stammen aus den 1980er und 1990er Jahren. Die Verwendung dieser Studien erweist sich als fraglich, da die Zuchtfortschritte in der Geflügelhaltung sehr groß sind und in den vergangenen 20 – 30 Jahren deutliche Leistungssprünge erreicht wurden (Siegel 2014).

Nichtsdestoweniger können diese Studien Hinweise auf Mangelleistungen aufgrund zu geringer Vitaminversorgung geben und deren Ursache erläutern. Eine Riboflavin-Unterversorgung (1,48 mg/kg FM) bei 45 Wochen alten Entenelterntieren führte nach zwei Wochen Mangelernährung zu geringeren Riboflavin-Gehalten im Plasma der Tiere (-40 %) (Tang *et al.*, 2017). Im Eigelb der gelegten Eier lag der Riboflavin-Gehalt nach zwei Wochen 28,7 % unter dem der Vergleichsgruppe. Die Gehalte im Plasma und im Eigelb sanken in den folgenden Wochen weiter. Damit verbunden war auch eine hohe embryonale Sterblichkeit und eine stark gesunkene Schlupffähigkeit nach zwei Wochen. Die Schlupffähigkeit sank weiter und erreichte nach sechs Wochen einen Wert von 0 %. Bereits nach 13 Tagen Brutzeit war der überwiegende Teil der Embryonen tot. Die maternalen Enten mit Riboflavin-Mangel in der Fütterung zeigten keine Unterschiede zur Kontrollgruppe bezüglich des Körpergewichts, der Eiproduktion oder des Eigewichts (Tang et al. 2019).

Andere Studien mit Eintagsküken männlicher Pekingtonen zeigten, dass in der frühen Entwicklungsphase der Tiere ein Riboflavin-Mangel (1,38 mg/kg FM) negative Auswirkungen mit sich

brachte. Die Mortalität der Küken, die eine Riboflavin-Mangeldiät erhielten, war mit 9,38 % signifikant höher als die der Vergleichsgruppen. Hier lag die Sterblichkeit nach 21 Tagen lediglich bei 0,0 % bzw. 1,04 %. Auch in der täglichen Zunahme zeigten sich nach 21 Tagen Unterschiede; die Kontrollgruppe war der Mangelgruppe in allen Parametern überlegen. Die durchschnittliche Tageszunahme lag bei Riboflavin-Mangel bei 15,1 g, die Kontrollgruppe nahm im Durchschnitt täglich 60,7 g zu. Die tägliche Futtermittelaufnahme der Kontrollgruppe lag bei 100,3 g (Futter-Zunahme Verhältnis: 0,61), die Testgruppe nahm im Schnitt 29,4 g Futter/d auf (Futter-Zunahme Verhältnis: 0,51). Relativ zum Körpergewicht war die Leber der Testgruppe größer (4,47 (Lebergewicht/Körpergewicht (g/100 g))) als die der Kontrollgruppe (3,36). Zudem waren die Riboflavin-Gehalte im Plasma reduziert, im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auch die Riboflavin-, FMN- und FAD-Konzentration in der Leber waren geringer. Eine erhöhte Menge Leberlipide, sowie höhere Cholesterinwerte waren vorzufinden (Tang et al. 2017).

Die Ursache für die hohe embryonale Sterblichkeit und das geringe Wachstum der Tiere bei Riboflavin-Mangel konnte durch die negative Beeinflussung des Zellstoffwechsels erklärt werden. Bei Riboflavin-Mangel kommt es in der Leber zu Änderungen der Expression einiger Proteine, die für den Lipidmetabolismus und die Zellatmung wichtig sind. Flavinproteine, die an der β -Oxidation beteiligt sind, werden in ihrer Expression runterreguliert, was zu einer Beeinträchtigung der β -Oxidation von Fettsäuren führt. In der Folge kommt es zur Akkumulation von Leberlipiden. Die Leber wird größer und heller, eine Fettleber entsteht. Außerdem werden Proteine, die wichtig für die Zellatmung sind, runterreguliert. Es kommt zu negativen Auswirkungen auf die oxidative Phosphorylierung, die Elektronen Transport Kette und den Citratzyklus, wodurch die Energiegeneration (ATP Bildung) reduziert wird und in Wachstumsdepressionen enden (Tang et al. 2017; Tang et al. 2019).

Deyhim et al. (1992) konnten in einer Studie mit Masthähnchen nach acht Wochen zeigen, dass ein Riboflavin-Gehalt über den NRC Empfehlungen (NRC, 1994) zu höheren Wachstumsleistungen und gestiegenem Futtermittelverbrauch führt. Bei einem Riboflavin-Gehalt von 3,6 mg/kg FM erreichten die Tiere ein Lebendgewicht von 2,75 kg bei einem Futtermittelverbrauch von 6,55 kg. Bei einem erhöhten Riboflavin-Gehalt (7,2 mg/kg FM), stieg auch die Lebendmasse auf 2,92 kg und der Futtermittelverbrauch auf 6,64 kg. Noch höhere Riboflavin-Gehalte (14,4 mg/kg FM) konnten keine Zusatzleistung mehr generieren, die Lebendmasse lag mit 2,85 kg unter der 7,2 mg Variante, bei einem nahezu identischen Futtermittelverbrauch. Wurde ein Futter mit geringeren Gehalten Riboflavin angeboten als empfohlen, so war die Leistung (2,7 kg Lebendgewicht) und der Futtermittelverbrauch (6,35 kg) am geringsten. Die Mortalität war bei der Fütterungsvariante mit 3,6 bzw. 7,2 mg Riboflavin/kg FM am geringsten, bei geringeren Gehalten stieg die Sterblichkeitsrate an. Die Schlachtkörperparameter zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Riboflavin-Konzentrationen im Futter (Deyhim et al. 1992).

Neben dem Gehalt entscheidet auch die Verfügbarkeit des Riboflavins in der Ration über die Leistung der Tiere. Chung und Baker (1990) konnten nachweisen, dass die Bioverfügbarkeit des Riboflavins in einer Mais-Sojabasierten Ration lediglich bei 59,1 % lag. Zusätzlich beigefügtes Riboflavin konnte hingegen vollständig aufgenommen werden. Die Eintagsküken der Nicht-Mais-Soja Ration benötigten 1,8 mg Riboflavin/kg im Futter. Die Küken der Soja-Mais Ration benötigten 2,83 mg Riboflavin/kg zusätzlich, um die gleiche Leistung zu erreichen (Chung und Baker 1990).

Andere Studien zeigten, dass die Zulage von Riboflavin im Futter zu Veränderungen der Bioverfügbarkeit der anorganischen Mineralstoffe Kupfer, Zink und Mangan führen kann und ihre Ausscheidungen mit dem Kot verringern (Salami et al. 2016). Eine exzessive Vitaminaufnahme kann somit zu einer Imbalance des Mineralstoffhaushalts bzw. deren Aufnahme führen (Watts 1990).

Mit fortschreitender Mastdauer werden einige Futterinhaltsstoffe reduziert, um den Stoffwechsel des Tiers, die Belastung der Umwelt und die Kosten der Mäster zu senken (Kirchgeßner et al. 2014). In diesem Zusammenhang wurden Studien durchgeführt, welche in der Finisher-Phase der Mast den Mineralstoff- und Vitaminprämix des Futters entnahmen. In den Ergebnissen unterscheiden sich die

Studien. Der Prämixentzug des Futters ab dem 42. Tag bis zur Schlachtung am 56. Tag hat laut Khajali et al. (2006) keinen negativen Effekt auf die Gewichtszunahme und die Futterverwertung, sowie die Ausschachtung, den Brustfleischanteil, den Magerfleischanteil und das abdominale Fett. Lediglich die Futteraufnahme zeigte sich erhöht (Khajali et al. 2006). Auch Skinner et al. (1992) zeigen, dass die Entnahme des Mineralstoff- und Vitaminprämixes schon ab dem 28. Tag bis zur Schlachtung am 49. Tag, keinen negativen Effekt auf die Gewichtszunahme, den Futterverbrauch, die Ausschachtung, die Mortalität, das abdominale Fett und auf Fußabnormalitäten (engl. leg disorders) hat. Deyhim und Teeter (1993) wiesen andere Ergebnisse nach. Der Entzug von Mineralien und Vitaminen ab dem 28. – 49. Tag führte zu geringeren Gewichtszuwächsen und einer geringeren Fütterungseffizienz der Testgruppe. Bei reinem Entzug der Vitamine kam es, wie zuvor, zu geringeren Gewichtszunahmen und geringeren Futtereffizienzen. Außerdem stieg die Mortalität und der Brustfleischanteil sank (Deyhim und Teeter 1993).

2.6 Effekt der Vitaminversorgung auf Tiergesundheit und Tierwohl

Die Aspekte des Tierwohls in Zusammenhang mit der Vitaminversorgung und im speziellen mit der Riboflavin-Versorgung wurden, wie schon die Leistung, in den vergangenen Jahren in der Literatur wenig beachtet. Viele Studien stammen aus den Jahren vor 1980.

Thematisiert wird überwiegend die Fußparalyse, die auch als Curled-toe Paralysis bezeichnet wird. In früheren Studien und Veröffentlichungen wird der Eindruck erweckt, dass ein Riboflavin-Mangel mit einer Deformation der Füße einhergeht (Ketz 1972). Jedoch treten andere Symptome oder der Tod der Tiere deutlich häufiger auf. Bei der Curled-toe Paralysis krümmen sich die Zehen der Tiere nach unten, gleichzeitig drehen sich die Füße nach innen. Die Tiere laufen nun teilweise oder vollständig auf den Sprunggelenken. Zu erkennen ist dies in Abbildung 4. Bevor die Krümmung der Zehen einsetzt sind einige Tiere bereits verendet. Mit dem Riboflavin-Mangel gehen andere Symptome einher, die äußerlich nicht zu erkennen sind und dennoch zum Tod der Tiere führen (Wyatt et al. 1973).



Abbildung 4: Darstellung eines an Curled-toe Paralysis erkrankten Kükens

(Quelle: PoultryDVM)

Erhalten Masthühnerküken in den ersten drei Wochen keinen Riboflavin-Zusatz, ausgenommen der nativen Futtergehalte, lag die Mortalität bei 35 %. Dabei zeigten 7,5 % der Küken eine Curled-toe

Paralysis. Mit steigenden Riboflavin-Zusätzen stiegen das Körpergewicht und die Mortalität ging zurück. Das Auftreten der Fußdeformation sank auf jeweils 0 %, bei einem Riboflavin-Zusatz von 4,5 mg/kg. Schon bei einer Supplementation von 0,22 mg/kg sank die Mortalität auf 11 % und die Fußparalyse auf 5 %. Damit wurde deutlich, dass die Curled-toe Paralysis nicht so häufig auftritt wie erwartet. Andere, äußerlich nicht erkannte Symptome, führen eher zum Tod der Tiere (Wyatt et al. 1973).

Bei zu geringen Konzentrationen von Riboflavin im Futter zeigten einige Tiere abnormales Verhalten bzw. veränderte Körperhaltungen. Erste Symptome waren das Absenken von Kopf, Flügeln und Stoßfedern. Bei stärkerem Mangel lagen die Tiere auf der Brust und den Sprunggelenken. Wieder waren Kopf, Flügel und Stoßfedern abgesenkt. Die Tiere bewegten sich noch, das Gewicht lastete beim Gang aber auf den Sprunggelenken, eine Curled-toe Paralyse lag nicht vor. Bei einem sehr starken Mangel waren, wie zuvor, Kopf, Flügel und Stoßfedern abgesenkt. Die Beine waren vom Körper gespreizt, dabei war eins häufig nach vorne, das andere nach hinten gerichtet. Das Tier lag auf der Brust und konnte sich nur fortbewegen, wenn es sich zusätzlich auf die Brust stützte. Beobachtet werden konnte auch ein Widerwillen sich zu bewegen. Tiere die durch einen Mangel so stark eingeschränkt waren starben in der Regel (Wyatt et al., 1973; Jortner et al., 1987).

Die Riboflavin-Versorgung hängt mit dem Leberstoffwechsel zusammen. Durch die Beeinträchtigung der β -Oxidation von Fettsäuren kommt es zu einer Akkumulation von Leberlipiden, eine Fettleber entsteht (Tang et al. 2017). Eine solche Erkrankung kann langfristig betrachtet zu weiteren negativen Folgen führen. Beim Menschen können Leberzirrhosen, Herz-Kreislaufkrankungen oder Diabetes mit einer solchen Leber in Verbindung gebracht werden (Weiß et al. 2014). Literatur zu Folgeerkrankungen einer Leberschädigung in der Geflügelhaltung konnte nicht gefunden werden. Aufgrund der geringen Länge einer Mastphase in der Geflügelwirtschaft, sind diese Erkrankungen nicht von Bedeutung. Lediglich bei Tieren die längere Zeit gehalten werden, könnten Leberprobleme auftreten (z.B. Elterntiere).

3. Material und Methoden

3.1 Projektteil Agrano GmbH & Co. KG

Die zu untersuchenden Hefestämme wurden über die mikrobiologischen Stammsammlungen DSMZ (Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) und CBS (Westerdijk Fungal Biodiversity Institute) erworben. Es wurden Hefen der Gattung *Candida/Debaryomyces* und der Hefe-Pilz *Ashbya gossypii* untersucht. Bei den untersuchten Stämmen handelt es sich durchweg um Wildstämme, die keiner Mutation oder gentechnischen Veränderung unterlagen. Die Stammhaltung der Mikroorganismen erfolgte bei -80°C in Kryokulturen. Für jede Versuchs- und Produktionscharge wird eine frische kryokonservierte Kultur verwendet.

Die für die Fermentationen verwendeten Rohstoffe wurden aus dem Produktionsinventar der Agrano GmbH & Co. KG entnommen und beinhalten Substrate, die analog zur Herstellung der Bio-Hefeprodukte eingesetzt werden. Als Lösungsmittel wurde Leitungswasser eingesetzt.

Laborversuche wurden in Schüttelkolben auf Inkubations-Orbitalschüttlern durchgeführt. Technikumsversuche wurden in Bioreaktoren mit 75 l Nennvolumen und Pilotversuche in Bioreaktoren mit 2000 l Nennvolumen durchgeführt. Die für die Fermentation eingesetzten Rohstoffe, Behälter und Apparaturen wurden bei 121 °C für 20 Minuten sterilisiert. Zuckerhaltige Rohstoffe werden dabei getrennt von proteinhaltigen Substraten sterilisiert, um Maillard-Reaktionen zu vermeiden. Die Medienbestandteile werden nach der Sterilisation vereint und mit einer flüssigen Vorkultur des Mikroorganismus steril angeimpft. Die Belüftung der Reaktoren erfolgt mit sterilfiltrierter Luft. In Fermentern wird der Anteil des gelösten Sauerstoffs über eine pO₂-Sonde bestimmt und durch eine Kaskadenregelung der Rührerdrehzahl und der Belüftungsrate eingestellt. Eine Regelung des pH-Wertes erfolgt nicht.

Die Riboflavin-Konzentration, sowie weitere Futtermittelanalysen wurde in einem dafür akkreditiertem Prüflabor (Agrolab LUFA GmbH) analysiert.

3.2 Projektteil FiBL Deutschland e.V.

Das im Projektteil der Firma Agrano GmbH & Co. KG beschriebene Einzelfuttermittel mit hohem nativem Riboflavin-Gehalt auf Basis der Fermentation der Hefe *Ashbya gossypii* (EcoVit R) wurde in Fütterungsversuchen zunächst an Masthähnchen und Legehennen hinsichtlich Akzeptanz untersucht.

Darauf aufbauend wurde die Fermentations-Suspension in Fütterungsversuchen an Masthähnchen und Mastbroiler-Elterntieren untersucht. Im Folgenden wurde ein Trockenprodukt entwickelt und weitere Fütterungsversuche an Masthähnchen, Mastputen und Legehennen folgten. Die Darstellung der Fütterungsversuche erfolgt nachfolgend nach Tierarten bzw. Produktionsrichtungen.

3.2.1 Fütterungs-Vorversuche

In zwei Vorversuchen an Legehennen und Masthähnchen sollte geklärt werden, ob die entwickelte Fermentations-Suspension mit hohem nativem Riboflavin-Gehalt in Hinblick auf Akzeptanz, Tiergesundheit, physiologische und agronomische Leistungsparameter äquivalent ist zu der am Markt verfügbaren konventionellen Riboflavin-Quelle.

Bei den Legehennen dauerte die Versuchsperiode vier Wochen und es wurden vier Gruppen mit 18 bis 20 Tieren untersucht. Nach zwei Wochen wurde die Riboflavin-Quelle in den Futtermischungen in einem Cross-Over-Design getauscht. Bei den Masthähnchen wurden drei Durchgänge mit einer Untersuchungsdauer von jeweils zwei Wochen durchgeführt.

3.2.2 Versuch I: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension

3.2.2.1 Tiere und Haltung

In zwei Durchgängen wurden am Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum (LVFZ) für Geflügel und Kleintierhaltung in Kitzingen insgesamt 1600 gemischtgeschlechtliche Eintagsküken der Genetik Ranger Gold™ untersucht. Dabei handelt es sich um eine Kreuzungszucht weiblicher Ranger und männlicher Gold Elterntiere. Ranger Gold™ ist ein langsam wachsender Masthybrid, gezüchtet vom Unternehmen Aviagen (Aviagen Epi GmbH, Cuxhaven, Deutschland).

Gehalten wurden die Tiere im Niedrigenergiestall des LVFZ für Geflügel in Kitzingen (Baujahr 2014). Der Stall verfügt über 40 Abteile mit je 5 m² Fläche. Eingestellt wurden pro Abteil 20 Tiere (durchschnittliches Schlupfgewicht: 39 g), dies entspricht einer Besatzdichte von 4 Tieren/m² bzw. maximal 10 kg Lebendgewicht/m² (Zielgewicht der Tiere: 2,5 kg). Die Zuteilung der Tiere zu den Abteilen erfolgte zufällig, eine geschlechtliche Trennung bzw. gezielte Zuordnung fand nicht statt. Die Tiere wurden in Bodenhaltung im Fensterstall gehalten. Die Einstreu bestand aus Strohgranulat, von dem 1 kg/m² verwendet wurde. Eine Unterdruckbelüftung mit Luft-Luft-Wärmeaustauscher und eine Sprühkühlung waren zur Temperaturregulation vorhanden. Jedes Abteil war zusätzlich bis Tag 35 mit einem Gasstrahler ausgestattet, dieser diente als lokale Heizung des Abteils. Durch die hohe Anzahl der Strahler hatte dies neben der lokalen Heizung den Effekt einer Raumheizung. LED-Beleuchtung wurde zur Steuerung des Lichtprogramms verwendet. Vom ersten bis zum dritten Masttag betrug die Lichtdauer 23 h, 1 h war das Licht im Stall nicht eingeschaltet. Ab dem vierten Tag herrschten im Stall 18 h Licht und 6 h Dunkelheit. Bis drei Tage vor der Schlachtung wurde dieses Programm weitergeführt, anschließend wurde die Lichtdauer wieder auf 23 h erhöht und die Dauer der Dunkelheit auf 1 h/d reduziert.

In der Brüterei erhielten die Tiere am ersten Tag eine Sprayimpfung gegen Infektiöse Bronchitis. Am 16. Tag wurde den Tieren eine weitere Impfung gegen Infektiöse Bronchitis und Newcastle Disease über das Trinkwasser verabreicht. Die Vitamine A, D₃ und E wurden den Tieren ebenfalls über das Trinkwasser am selben Tag zugeführt.

Futter war für die Tiere ad libitum zu erreichen. In den ersten zwei Wochen wurde das Futter in Futterschalen angeboten, in den folgenden Wochen bis zur Schlachtung in Rundtrögen ohne Grill. Die Rundtröge wurden an Ketten befestigt und konnten in der Höheneinstellung variiert werden, abhängig des Wachstumsstadiums der Masthühner. Sowohl die Futterschalen als auch die Futterautomaten wurden per Hand befüllt. Jedem Abteil wurde ein Futtervorratsbehälter mit entsprechendem Futter und Menge zugeteilt. Zwei benachbarte Abteile (Doppelabteil) gehörten derselben Futtergruppe an. Die Anordnung der Futtergruppen im gesamten Stall fand nach einem einheitlichen Schema statt, welches Einflüsse der Platzierung innerhalb des Stalls minimierte.

Die Wasserversorgung erfolgte über die gesamte Mastperiode ad libitum über Nippeltränken mit Auffangschalen. Durch Befestigung an Ketten konnte auch die Nippeltränkeleiste an die Größe der Tiere angepasst werden. Alle Tränken waren mit einem Vorratsbehälter ausgestattet, wobei ein 60 l Behälter mit Wasseruhr zwei Abteile mit Wasser versorgte.

3.2.2.2 Fütterung

Vom 1. bis zum 28. Lebenstag wurde Starterfutter und danach bis zur Schlachtung an Tag 62/63 ein Mastfutter verabreicht. Die ökologisch zertifizierten Alleinfuttermischungen wurden von der Kaisermühle Gänheim Otmar Kaiser GmbH (Arnstein-Gänheim, Deutschland) hergestellt. Die Grundmischung enthielt einen Prämix ohne Riboflavin-Supplementierung. Vor der Futterzubereitung

wurden alle Einzelkomponenten auf ihren Riboflavin-Gehalt mit der HPLC-Methode (DIN EN 14152:2006) untersucht. Sämtliche Futtermittelanalysen für diesen als auch allen weiteren Fütterungsversuche wurden durch die LUFA-ITL GmbH (Kiel, Deutschland) durchgeführt. In Tabelle 3 sind die natürlichen Riboflavin-Gehalte der Futterkomponenten angegeben, ebenso wie der Mischungsanteil für das Aufzucht- und Mastfutter.

Tabelle 3: Trockensubstanz- und Riboflavin-Gehalt sowie Mischungsanteile der Futterkomponenten in den Starter- und Mast-Alleinfuttermischungen des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension

Futterkomponente	Trockensubstanz (%)	Riboflavin-Gehalt (mg/kg FM)	Starterfutter (%)	Mastfutter (%)
Mais	86,8	0,99	15,0	15,0
Weizen (Korn)	86,9	0,80	16,4	11,0
Weizen (geschrotet)	85,9	0,76	-	7,7
Triticale	86,3	0,89	6,0	18,0
Erbsen	85,7	1,57	12,0	12,0
Sojabohnen	93,8	2,47	1,8	-
Sojakuchen	92,3	2,95	13,9	13,4
Weizenkleber	92,2	3,07	8,7	-
Weizenkleie	86,1	2,00	8,0	6,0
Rapskuchen	93,1	2,86	-	4,0
Maiskleber	92,4	2,67	4,6	4,6
Leinsamenkuchen	91,4	1,91	4,0	-
Sesamkuchen	91,6	4,21	3,0	-
Bierhefe	94,2	20,40	2,5	-
Grasmehl	90,2	8,81	-	4,0
Sonnenblumenöl	99,9	¹	0,5	-
Prämix ²	96,2	¹	0,6	0,5
Calciumcarbonat	³	³	1,8	2,0
Monocalciumphosphat	³	³	0,8	1,2
Diatomeenerde	³	³	0,3	0,3
Salz	³	³	0,1	0,2

¹ Unterhalb der Nachweisgrenze.

² Der Prämix wurde von der Firma Miavit GmbH (Essen, Deutschland) ohne Zugabe von Riboflavin hergestellt.

³ Nicht analysiert.

Auf Basis der Grundmischung wurden vier Alleinfuttermischungen (10 Abteile je Variante) getestet: eine Grundmischung 1) ohne Supplementierung von Riboflavin und mit ausschließlich nativem Riboflavin der Futterkomponenten (NATIV), 2) mit Riboflavin-Supplementierung einer konventionellen Quelle (9,6 mg/kg im Starter- und 8,0 mg/kg im Mastfutter; Cuxavit B2 80% (Kaesler Nutrition GmbH, Cuxhaven, Deutschland) (KONV), 3) mit Riboflavin-Supplementierung der alternativen Quelle in niedriger Dosierung (3,5 mg/kg) (A-NIEDRIG) und 4) hoher Dosierung (9,6 mg/kg im Starter- und 8,0 mg/kg im Mastfutter) (A-HOCH). Die Nährstoffzusammensetzung der Alleinfuttermischungen ist in Tabelle 4 wiedergegeben.

Die alternative Quelle war das von der Firma Agrano entwickelte Einzelfuttermittel mit hohem nativem Riboflavin-Gehalt auf Basis der Fermentation der Hefe *A. gossypii*. Die Inhaltsstoffzusammensetzung des für die Alleinfuttermischungen verwendeten Produktes ist Tabelle 4 zu entnehmen. Die Riboflavin-Supplementierung fand gleichzeitig mit der Zugabe des Prämixes, der Kräutermischung, des Monocalciumphosphates, der Diatomeenerde und des Salzes bei der Futterherstellung statt. Nach der Mischung wurde die Futtermischung pelletiert und anschließend granuliert.

Tabelle 4: Inhaltsstoffzusammensetzung der Starter- und Mastalleinfuttermischungen sowie der Fermentations-Suspension des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension

Parameter	Starterfutter				Mastfutter				Suspension
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH	
Riboflavin (mg/kg OS)	3,05	9,36	5,51	11,40	1,99	9,15	5,43	11,00	741,00
Trockensubstanz (TS) (g/kg)	885	882	878	877	875	874	872	865	54
Rohprotein (g/kg TS)	230	237	231	243	200	193	194	190	17
Rohfett (g/kg TS)	61	60	61	64	45	43	45	43	18
Rohfaser (g/kg TS)	35	44	47	45	46	44	44	43	<3
Saccharose (g/kg TS)	41	41	40	43	43	43	46	43	<10
Stärke (g/kg TS)	37	36	36	35	43	43	43	43	<10
Stickstofffreie Extraktstoffe (g/kg TS)	54	53	53	51	58	57	57	58	11
Rohasche (g/kg TS)	75	68	67	76	75	75	75	71	8
ME (MJ/kg TS)	12,4	12,3	12,3	12,4	12,3	12,2	12,3	12,2	9
Aminosäuren									
Lysin (g/kg TS)	10,0	10,0	9,8	10,5	8,8	9,0	8,9	8,4	0,6
Methionin (g/kg TS)	3,6	3,7	3,6	3,8	3,1	3,1	3,0	3,0	<0,5
Cystein (g/kg TS)	4,1	3,8	4,1	4,2	3,4	3,5	3,3	3,3	<0,5
Threonin (g/kg TS)	8,2	8,1	8,1	8,7	7,1	7,1	7,1	6,8	<0,5

3.2.2.3 Datenerhebung

Das individuelle Tiergewicht ebenso wie die gruppenweise Futter- und Wasseraufnahme wurden wöchentlich bis zur Schlachtung am 62./63. Tag erhoben. Die Uniformität wurde anhand der individuellen Körpergewichte bei der Schlachtung ermittelt. Zweiwöchentlich wurden 5 bis 10 Tiere je Abteil auf Pododermatitis (Score 0 = unverändert bis Score 2 = starke Pododermatitis; Tabelle 5 und Abbildung 5), Sprunggelenksentzündungen (Score 0 = keine Entzündung bis Score 2 = starke Entzündung) und Gefiederverschmutzung (Score 0 = sauber bis Score 3 = hochgradig verschmutzt; Tabelle 6) untersucht. Die Mortalität wurde täglich erfasst.

Tabelle 5: Schema für Pododermatitis (nach Welfare Quality®, 2009)

Score	Definition nach Welfare Quality® (2009)
0	keine Pododermatitis
1a	minimale Läsionen < 0,5 cm
1b	minimale Läsionen > 0,5 cm
2a	deutliche Läsionen über gesamten Sohlenballen
2b	deutliche Läsionen, Sohlen- und Zehenballen betroffen

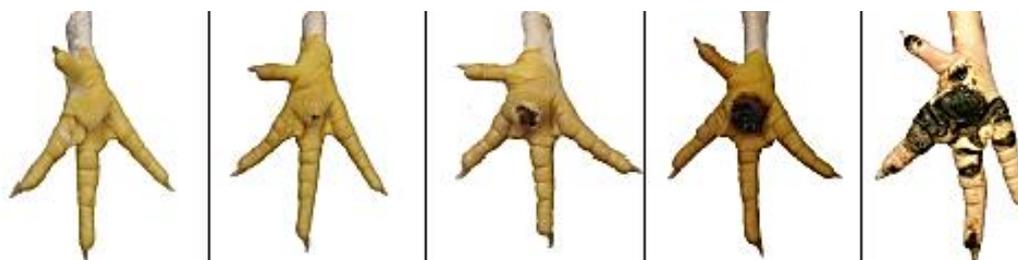


Abbildung 5: Ausprägungsgrade nach Welfare Quality® (2009) für Pododermatitis von Score 0 (links) bis Score 2b (rechts) (Abb. nach Welfare Quality® (2009))

Tabelle 6: Schema für Gefiederverschmutzung (nach Welfare Quality®, 2009)

Score	Definition nach Welfare Quality® (2009) / Westermaier (2015)
0	Sauberes Gefieder
1	geringgradig verschmutzt, einzelne kotverschmutzte Stelle mit evtl. Anhaftung von Einstreu
2	mittelgradig verschmutzt, mehrere kotverschmutzte Stellen und Einstreu im Gefieder
3	hochgradig verschmutzt, deutliche und zusammenhängende Kotverschmutzungen

Schlachtparameter wie Ausschachtung, Anteil an wertvollen Teilstücken, Abdominalfett, Leber, Herz und Magen, Leberfarbe (Score 0 = dunkelrot bis Score 2 = gelblich, veränderte Struktur) (Abbildung 6) wurden an fünf männlichen und weiblichen Tieren je Abteil erfasst.

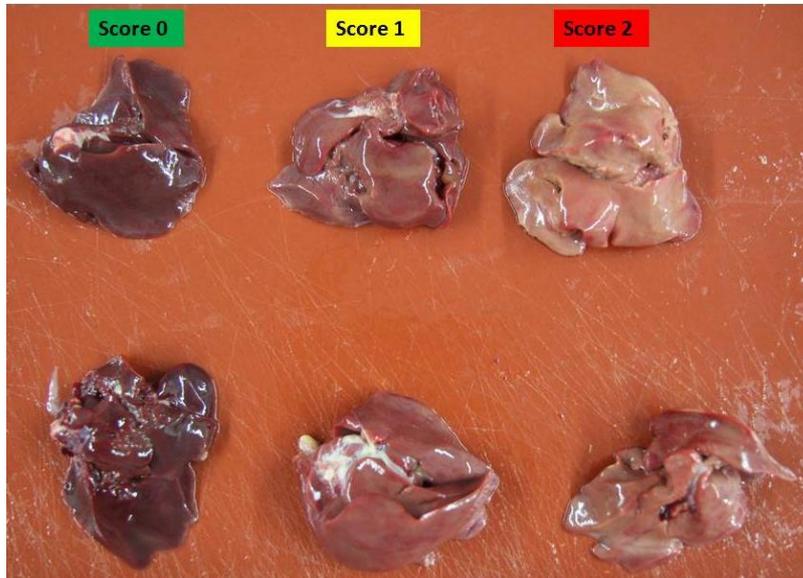


Abbildung 6: Schema für Leberscore

Score 0 = dunkelrote Leberfarbe mit glatter, glänzender Oberfläche und klaren Rändern; Score 1 = hellrote Leber mit leicht veränderter Struktur und Oberfläche; Score 2 = gelbliche Leber, zum Teil grieselig und zum Teil zerrissen.

Zur Überprüfung der Rentabilität wurden einheitliche Indizes verwendet. Sie dienen der Standardisierung und damit der Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Einer dieser Indizes ist der Europäische Broiler Index (EBI) (Marcu et al. 2013). Dieser ist ein Produktionsindex, der die Tageszunahme, die Überlebensrate (100% – Mortalität) und die Futterverwertung (kg Futter/kg Körpergewichtszulage) enthält:

$$EBI = \frac{\text{Überlebensrate (\%)} * \text{Tageszunahme (g/Tier/d)}}{\text{Futterverwertung (kg/kg)} * 10}$$

Das Income Over Feed Costs (IOFC) – der „Erlös nach Futterkosten“ – gibt an, wie viel Erlös nach Abzug der Futterkosten vorhanden ist, um die restlichen Kosten zu decken. Er beinhaltet das Körpergewicht (kg) und den Futterverbrauch (kg) mit den dazugehörigen Erlösen bzw. Kosten:

$$IOFC = \text{Körpergewicht (kg)} * 2,65 \text{ €} - \text{Futterverbrauch (kg)} * 0,56 \text{ €}$$

Zur Berechnung wurden Futterkosten von 0,56 €/kg und Erlöse von 2,65 € je kg Körpergewicht angesetzt.

3.2.2.4 Statistische Analyse

Die statistische Analyse erfolgte mit dem Programm SAS, Version 9.4 (Statistical Analysis Systems, Cary, North Carolina, USA). Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde bei $\alpha = 0,05$ gesetzt. Im statistischen Modell für die Leistungsparameter wurden die Versuchsgruppe und der Durchgang als fixe und das Abteil als zufälliger Effekt berücksichtigt. Da die Interaktion zwischen Versuchsgruppe und Durchgang für keiner der getesteten Parameter eine Signifikanz aufwies, blieb sie in dem endgültigen statistischen Modell unberücksichtigt. Anhand von Boxplots und der Prozedur Univariate wurden die einzelnen Parameter auf Normalverteilung getestet. Gefiederverschmutzung, Leberfarbe und Fußballendermatitis wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Testes ausgewertet.

3.2.3 Versuch 2 – Durchgang I: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

Dieser Versuch umfasste zwei Durchgänge, die sich vom Versuchsdesign lediglich in der Höhe der Riboflavin-Supplementierung unterschieden.

3.2.3.1 Tiere und Haltung

Durchgeführt wurde der erste Durchgang dieses Versuches von Februar bis April 2019 am LVFZ für Geflügel und Kleintierhaltung in Kitzingen.

Die 800 gemischt-geschlechtlichen Eintagsküken des Genotyps Ranger Gold™ (Aviagen Epi GmbH, Cuxhaven, Deutschland) wurden eingestallt und bis zum 54. Lebenstag gemästet. Die Haltungsbedingungen und der Versuchsablauf entsprachen im Wesentlichen dem Broilermastversuch mit der Fermentations-Suspension (Kapitel 3.2.2.1).

3.2.3.2 Fütterung

Die achtwöchige Mast wurde in drei Fütterungsphasen gegliedert: In den ersten zwei Wochen erhielten die Tiere Starterfutter, in den folgenden vier Wochen wurde den Masthühnern das Aufzuchtfutter 1 und in den letzten zwei Wochen vor der Schlachtung das Aufzuchtfutter 2 angeboten. Die Zusammensetzung der verschiedenen Mischfutter sind zusammen mit den nativen Riboflavin-Gehalten der Einzelfuttermittel in Tabelle 7 dargestellt. Hergestellt wurden die Mischfutter in Bio-Qualität durch die Kaisermühle Gänheim Otmar Kaiser GmbH (Arnstein-Gänheim, Deutschland). Die LUFA-ITL GmbH (Kiel, Deutschland) untersuchte die Futtermittel auf ihre Inhaltsstoffe und deren Zusammensetzung wie oben beschrieben.

Tabelle 7: Riboflavin-Gehalte sowie Mischungsanteile der Futterkomponenten im Starter-, Aufzucht 1- und Aufzucht 2- Alleinfutter des Masthühnerversuches mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1)

Komponente	Trocken- substanz (%)	Riboflavin- Gehalt (mg/kg OS)	Starter (in %)	Aufzucht 1 (in %)	Aufzucht 2 (in %)
Sojakuchen	89,6	3,00	34,9	25,5	27,2
Weizen	87,3	1,00	24,5	28,1	27,8
Mais	88,8	0,90	15,0	15,9	16,5
Weizenkleie	86,1	2,50	-	8,0	8,0
Weizenkleber- futter	92,2	3,80	9,1	-	-
Erbsen	87,1	1,70	-	7,6	-
Maiskleber	92,1	3,00	4,5	4,6	4,6
Sesamkuchen	91,7	5,10	-	4,0	4,0
Grünmehl	94,5	9,00	-	-	3,5
Sonnenblumenöl	99,9	¹	2,5	2,5	2,5
Bierhefe	93,4	21,6	2,5	-	-
Sonnenblumen- kuchen	93,4	3,31	1,9	-	-
Calciumcarbonat	NA	NA	1,8	1,6	1,5
Traubenzucker	NA	NA	1	-	
Monocalcium- phosphat	NA	NA	0,8	1,2	1,4
Prämix	NA	NA	0,6	0,5	0,5
Casein	92,6	6,4	0,5	-	-
Diamol/Kieselgur	NA	NA	0,3	0,3	0,3
Natriumchlorid	NA	NA	0,1	0,2	0,2
Oregano	NA	NA	0,03	0,03	0,03

¹ Unter der Analysegrenze.

NA = Nicht analysiert.

Neben den in Tabelle 7 aufgeführten Inhaltsstoffen, unterschieden sich die Alleinfuttermischungen in den zugesetzten Riboflavin-Gehalten. Die Riboflavin-Zugaben fanden in der Futtermühle unter den dort vorliegenden Gegebenheiten statt. Bei dem zugesetzten Riboflavin handelte es sich ausschließlich um das Fermentations-Trockenprodukt aus der *A. gossypii*-Fermentation mit hohem natürlichem Riboflavin-Gehalt der Firma Agrano. Ermittelt wurde der Riboflavin-Gehalt durch die HPLC-Methode (DIN EN 14152:2006). Auf Basis der Grundmischung wurden vier Alleinfuttermischungen erstellt, die jeweils im Verlauf der drei Phasen unterschiedliche Riboflavin-Konzentrationen erhielten. Die Riboflavin-Supplementierung fand gleichzeitig mit der Zugabe des Prämixes, der Kräutermischung, des Monocalciumphosphates, der Diatomeenerde und des Salzes bei der Futterherstellung statt. Nach der Mischung wurde die Futtermischung pelletiert und anschließend granuliert. Eine Übersicht der Riboflavin-Gehalte der verschiedenen Mischfutter ist in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Inhaltsstoffzusammensetzung der Starter-, Aufzucht 1 und Aufzucht 2-Alleinfuttermischungen sowie des Fermentations-Trockenproduktes des Masthühnerversuches mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 1)

Parameter	Starterfutter				Aufzuchtfutter 1				Aufzuchtfutter 2				Trockenprodukt
	NATIV	NIEDRIG	MITTEL	HOCH	NATIV	NIEDRIG	MITTEL	HOCH	NATIV	NIEDRIG	MITTEL	HOCH	
Riboflavin (mg/kg OS)	2,86	4,73	6,71	9,22	3,05	4,34	6,05	8,1	2,83	4,64	6,70	8,77	6 560
TS (g/kg)	886	888	884	882	882	883	883	885	886	887	888	888	945
Protein (g/kg TS)	279	281	286	289	249	246	245	246	237	239	239	236	252
Fett (g/kg TS)	99	98	98	97	91	67	91	94	88	91	88	95	110
Rohfaser (g/kg TS)	43	44	50	43	45	44	43	47	49	51	50	50	25
NfE (g/kg TS)	505	505	493	4965	537	566	544	536	550	545	553	547	521
Rohasche (g/kg TS)	75	75	71	71	72	75	73	76	77	75	72	75	159
ME (MJ/kg TS)	13,6	13,5	13,7	13,7	13,9	13,0	14,0	14,0	14,0	14,1	14,1	14,1	11,1
Aminosäuren													
Lysin (g/kg TS)	13,3	14,1	13,5	13,4	11,6	11,6	11,3	11,6	10,9	10,5	10,6	9,9	7,4
Methionin (g/kg TS)	4,4	4,4	4,4	4,6	4,2	4,1	4,1	4,0	4,1	4,0	4,1	4,1	2,1
Cystein (g/kg TS)	4,5	4,6	4,9	4,6	4,2	4,1	4,2	4,2	4,1	4,0	4,1	4,2	3,4
Threonin (g/kg TS)	10,0	10,4	10,2	10,4	9,0	8,8	8,7	8,7	8,6	8,4	8,6	8,4	8,1

¹ Nativgehalte an Riboflavin auf Basis der untersuchten Futtermittelkomponenten: Starterfutter = 2,56 mg/kg Originalsubstanz (OS); Aufzuchtfutter 1 = 1,87 mg/kg OS; Aufzuchtfutter 2 = 2,00 mg/kg OS.

3.2.3.3 Datenerhebung

Die Tiere wurden zufällig einem der 40 Abteile zugeordnet. Das Einstallgewicht der Eintagsküken wurde in einer Stichprobe von 360 Tieren gemessen. Wöchentlich wurde das Gruppengewicht aller Abteile erfasst und das Durchschnittsgewicht der Tiere errechnet. Die Mortalität wurde täglich aufgezeichnet und das Gewicht verendeter Tiere dokumentiert. An Tag 54 wurden Einzeltiergewichte aus 16 Abteilen erfasst, um die Uniformität zu bestimmen.

In einem zweiwöchigen Rhythmus (Tag 14, 28, 42, 54) fand die Beurteilung der Tiergesundheit aufgrund des Verschmutzungsgrads des Gefieders und der Fußballengesundheit statt. Fünf Tiere jeden Abteils wurden dazu zufällig ausgewählt und beurteilt. Die Gefieder- und Fußballenbonitur fand nach dem Schema des Welfare Quality® Protokolls wie oben beschrieben statt (siehe Tabelle 5, Tabelle 6 und Abbildung 5).

Die Rück- und Einwaage des Futters sowie das Ablesen der Wasseruhren fanden wöchentlich statt. Die Erfassung, sowie eine erste Sortierung und Auswertung der Daten fand mit der Datenbank EX2MSUI statt. Die Hardware zur Datenerfassung stellte ein Eingabegerät der Marke Psion dar.

Für weitere Untersuchungen und Messungen wurden 200 Tiere an Tag 54 geschlachtet. Jeweils fünf männliche und fünf weibliche Tiere wurden dazu zufällig aus einem Doppelabteil ausgewählt. Je 50 Tiere einer Futtervariante (NATIV, NIEDRIG, MITTEL, HOCH) wurden somit untersucht. Vor der Schlachtung wurden Einzeltiergewichte erfasst, nach der Schlachtung das Einzelschlachtkörpergewicht. Zugeordnet wurden die Tiere mithilfe von Flügelmarken. Die Gewichte von Herz, Leber und Muskelmagen wurden nach der Schlachtung aufgezeichnet. Die Schlachtkörperzerlegung fand einen Tag später nach dem Auskühlen standardisiert statt, die einzelnen Teilstückgewichte: Brust mit und ohne Haut, Schenkel und Flügel wurden dokumentiert. Ebenfalls wurden das Karkassengewicht und die Menge des Abdominalfettes gemessen. Die Leberfarbenbeurteilung fand anhand einer dreistufigen Farbskala statt (siehe Abbildung 6).

Neben den Daten der Schlachtkörper wurden nach der Schlachtung auch Tierwohlintikatoren aller 200 geschlachteten Tiere erfasst. Die untersuchten Indikatoren waren die Fußballengesundheit (Foot Pad Dermatitis) und die Sprunggelenkentzündungen (Hock Burns) nach dem oben beschriebenen Schema (siehe Tabelle 5, Tabelle 6 und Abbildung 5).

Der EBI (nach Marcu et al. 2013) und der Erlös nach Futterkosten wurden wie oben beschrieben berechnet.

3.2.3.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung fand mit dem Softwarepaket SAS (Statistical Analysis Systems, Cary, North Carolina, USA) in der Version 9.4 statt. Das Signifikanzniveau α lag bei 0,05. Die Fütterungsvarianten sowie deren Interaktionen mit der Woche als Messzeitpunkt

dienten als feste Effekte. Als zufälliger Effekt wurde das Abteil betrachtet. Ein Abteil diene außerdem als statistische Einheit. Zur Prüfung der Ausprägung der Daten wurden die Prozeduren CHART und UNIVARIATE verwendet. Leistungs- und Schlachtdaten, die die Anforderungen der ANOVA erfüllten, wurden unter Verwendung der Prozedur MIXED auf signifikante Unterschiede untersucht. Als Zielvariablen dienten das Tiergewicht, die Tageszunahmen, Futterverbrauch und Futterverwertung, der Wasserverbrauch, das Wasser-Futter-Verhältnis, sowie EBI und Erlös nach Futterkosten. Für diese Variablen wurden die Daten von 791 Tieren verwendet. Als Zielvariablen der Schlachtdaten (n = 200) fanden das Lebendgewicht, das Schlachtgewicht, die Ausschachtung, sowie die Anteile am Schlachtgewicht von Brust ohne Haut, Schenkel, Flügel, Karkasse, Abdominalfett, Leber, Herz und Magen Verwendung. Wenn der Interaktionsterm keine signifikanten Effekte der einbezogenen Eigenschaft zeigte, wurde dieser aus dem finalen Modell entfernt.

Ein Chi-Quadrat-Test mit $\alpha = 0,05$ wurde herangezogen, um die Daten der Fußballengesundheit, Gefiederverschmutzung, Sprunggelenksentzündungen und des Leberscores auf Unterschiede in den Fütterungsgruppen zu untersuchen. Die Stichprobengröße dieser Werte lag bei 200 Tieren.

3.2.4 Versuch 2 – Durchgang 2: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

3.2.4.1 Tiere und Haltung

Durchgeführt wurde der zweite Durchgang dieses Versuchen von Juli bis September 2019 in Stallungen des Bayrischen Landesamts für Landwirtschaft bzw. im LVFZ für Geflügel und Kleintierhaltung in Kitzingen.

Eingestellt wurden 799 weibliche und männliche Eintagsküken des Genotyps Ranger Gold™ (Aviagen Epi GmbH, Cuxhaven, Deutschland) und bis zum 54. Lebenstag gemästet. Die Haltungsbedingungen und der Versuchsablauf waren mit denen des ersten Durchganges dieses Masthühnerversuches identisch. Unterschiede ergaben sich lediglich bei den Riboflavin-Supplementierungen.

3.2.4.2 Fütterung

Die achtwöchige Mast wurde in drei Fütterungsphasen gegliedert: In den ersten zwei Wochen erhielten die Tiere Starterfutter, in den folgenden vier Wochen wurde den Masthühnern das Aufzuchtfutter 1 und in den letzten zwei Wochen vor der Schlachtung das Aufzuchtfutter 2 angeboten. Die Zusammensetzung der verschiedenen Mischfutter sind zusammen mit den nativen Riboflavin-Gehalten der Einzelfuttermittel in Tabelle 9 dargestellt. Es wurden die beiden Starterfutter NIEDRIG und MITTEL aus dem ersten Durchgang dieses Versuches verwendet. Bei Versuchsstart wurden diese erneut auf ihren Riboflavin-Gehalt untersucht und wiesen einen Gehalt von 4,00 bzw. 5,64 mg/kg auf. Er lag damit unter den Werten, die nach der Futterherstellung für den ersten Durchgang ermittelt wurden. In den darauffolgenden Mastabschnitten wurden die Zusammensetzungen der

Aufzuchtfutter 1 und 2 wie im ersten Durchgang verwendet (Tabelle 7), jedoch mit angepasster Supplementierung mit dem Fermentations-Trockenprodukt. Dabei wurden jeweils zwei Mischungen mit unterschiedlichen Riboflavin-Gehalten für das Aufzuchtfutter 1 und 2 hergestellt. Diese wurden jeweils zur Hälfte an Tiere verfüttert, die in der Starterphase das Futter mit niedriger Riboflavin-Dosierung erhalten hatten und zur anderen Hälfte an Tiere, die das Futter mit der höheren Dosierung bekommen hatten. Im Aufzuchtfutter 1 lagen die Riboflavin-Gehalte im Mittel bei 4,5 mg/kg in der niedrigen Dosierung und 6,2 mg/kg in der hohen Dosierung. Beim Aufzuchtfutter 2 waren es 3,6 bzw. 4,7 mg/kg in der niedrigen und hohen Dosierung.

Tabelle 9: Riboflavin-Gehalte der Futterkomponenten des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)

Rohstoffe	(TS) (%)	Riboflavin-Gehalt (mg/kg Originalsubstanz)
Weizen	87,3	0,88
Sojakuchen	89,6	3,03
Mais	88,8	0,86
Weizenkleberfutter	92,2	3,27
Weizenkleie	86,1	2,46
Erbsen hell	87,1	1,53
Maiskleber eiweißreich	92,1	2,19
Sesamkuchen	91,7	5,09
Grünmehl	94,5	8,18
Sonnenblumenöl	NA	NA
Calciumcarbonat	NA	NA
Monocalciumphosphat	NA	NA
Vormischung VPMK/GMK-Bio+Kräuter	NA	NA
Diamol/Kieselgur	NA	NA
Natriumchlorid Natur fein	NA	NA
Oregano Dostomineral	NA	NA

NA = Nicht analysiert.

Neben den in Tabelle 9 aufgeführten Inhaltsstoffen, unterschieden sich die Futtermischungen in den zugesetzten Riboflavin-Gehalten. Die Riboflavin-Supplementierung mit dem von der Firma Agrano entwickelten Fermentations-Trockenprodukt und die Riboflavin-Analyse fand analog zu Durchgang 1 statt (Kapitel 3.2.3.2). Es wurde dieselbe EcoVit R-Charge verwendet wie im ersten Durchgang. Eine Übersicht der Riboflavin-Gehalte der verschiedenen Mischfutter ist in Tabelle 10 dargestellt. Der Übersichtlichkeit halber sind die Riboflavin-Gehalte der Versuchsmischungen in Tabelle 11 separat aufgeführt.

Tabelle 10: Inhaltsstoffzusammensetzung der Starter-, Aufzucht 1- und Aufzucht 2-Alleinfuttermischungen des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)

Parameter	Starterfutter ¹		Aufzuchtfutter 1				Aufzuchtfutter 2			
	A-NIEDRIG/ B-NIEDRIG	C-HOCH/ D-HOCH	A-NIEDRIG	B-NIEDRIG	C-HOCH	D-HOCH	A-NIEDRIG	B-NIEDRIG	C-HOCH	D-HOCH
Riboflavin (mg/kg OS)	4,00	5,64	4,37	4,71	5,92	6,54	3,57	3,76	5,08	4,52
TS (g/kg)	888	886	889	892	889	887	890	891	890	891
Protein (g/kg TS)	286	286	245	240	242	248	237	238	236	237
Fett (g/kg TS)	96	97	78	80	78	80	74	77	69	79
Rohfaser (g/kg TS)	43	42	39	47	43	43	43	46	47	45
NfE (g/kg TS)	501	505	565	562	564	556	573	566	575	567
Rohasche (g/kg TS)	74	71	73	72	74	73	73	73	73	73
ME (MJ/kg TS)	13,6	13,7	13,8	13,8	13,8	13,9	13,7	13,9	13,7	13,9
Aminosäuren										
Lysin (g/kg TS)	13,1	12,9	11,0	11,7	11,3	10,9	10,7	10,7	10,8	10,8
Methionin (g/kg TS)	4,6	4,5	3,8	4,0	4,0	3,8	3,9	4,0	3,9	4,0
Cystein (g/kg TS)	4,6	4,6	4,0	4,3	4,3	6,9	4,3	4,3	4,3	4,3
Threonin (g/kg TS)	10,6	10,4	8,5	8,9	8,9	8,5	8,4	8,5	8,5	8,6

¹ Starter-Mischungen aus dem ersten Durchgang des Versuches 2. Die Analyse in Durchgang 1 ergab Riboflavin-Gehalte von 4,73 (NIEDRIG) und 6,71 (MITTEL).

Tabelle 11: Riboflavin-Gehalte (in mg/kg Alleinfutter) der Starter-, Aufzucht 1- und Aufzucht 2-Alleinfuttermischungen des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)

Versuchsgruppe	Starter	Aufzucht 1	Aufzucht 2
A-NIEDRIG	4,00	5,92	5,08
B-NIEDRIG	4,00	4,37	3,57
C-HOCH	5,64	6,54	4,52
D-HOCH	5,64	4,71	3,76

3.2.4.3 Datenerhebung

Wöchentlich wurde das Gruppengewicht aller Abteile erfasst und das Durchschnittsgewicht der Tiere errechnet. Die Mortalität wurde täglich aufgezeichnet und das Gewicht verendeter Tiere dokumentiert. An Tag 54 wurden Einzeltiergewichte aus 16 Abteilen erfasst, um die Uniformität zu bestimmen.

In einem zweiwöchigen Rhythmus (Tag 14, 28, 42, 54) fand die Beurteilung der Tiergesundheit aufgrund des Verschmutzungsgrads des Gefieders und der Fußballengesundheit für die in Durchgang 1 beschriebenen Schemata statt. Die Rück- und Einwaage des Futters und das Ablesen der Wasseruhren fanden wöchentlich statt.

Für weitere Untersuchungen und Messungen wurden 50 Tiere jeder Futtermitteldifferenz (A-NIEDRIG, B-NIEDRIG, C-HOCH, D-HOCH) an Tag 54 geschlachtet und auf Schlachtparameter untersucht. Jeweils fünf männliche und fünf weibliche Tiere wurden dazu zufällig aus einem Doppelabteil ausgewählt. Vor der Schlachtung wurden Einzeltiergewichte erfasst, nach der Schlachtung das Einzelschlachtkörpergewicht. Zugeordnet wurden die Tiere mithilfe von Flügelmarken. Die Gewichte von Herz, Leber und Muskelmagen wurden nach der Schlachtung aufgezeichnet. Die Schlachtkörperzerlegung fand einen Tag später nach dem Auskühlen standardisiert statt, die einzelnen Teilstückgewichte: Brust mit und ohne Haut, Schenkel und Flügel wurden dokumentiert. Ebenfalls wurden das Karkassengewicht und die Menge des Abdominalfettes gemessen. Die Leberfarbenbeurteilung fand anhand einer dreistufigen Farbskala statt (siehe Abbildung 6).

Neben den Daten der Schlachtkörper wurden nach der Schlachtung auch Tierwohlindikatoren aller 200 geschlachteten Tiere erfasst. Die untersuchten Indikatoren waren die Fußballengesundheit (Foot Pad Dermatitis) und die Sprunggelenkentzündungen (Hock Burns) nach dem oben beschriebenen Schema (siehe Tabelle 5, Tabelle 6 und Abbildung 5).

Der EBI (nach Marcu et al. 2013) und der Erlös nach Futterkosten wurden wie oben beschrieben berechnet.

3.2.4.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung fand mit dem Softwarepaket SAS (Statistical Analysis Systems, Cary, North Carolina, USA) in der Version 9.4 statt. Das Signifikanzniveau α lag bei 0,05. Die Fütterungsvarianten sowie deren Interaktionen mit der Woche als Messzeitpunkt dienten als feste Effekte. Als zufälliger Effekt wurde das Abteil betrachtet. Ein Abteil diente außerdem als statistische Einheit. Zur Prüfung der Ausprägung der Daten wurden die Prozeduren CHART und UNIVARIATE verwendet. Leistungs- und Schlachtdaten, die die Anforderungen der ANOVA erfüllten, wurden unter Verwendung der Prozedur MIXED auf signifikante Unterschiede untersucht. Als Zielvariablen dienten das Tiergewicht, die Tageszunahmen, Futterverbrauch und Futterverwertung, der Wasserverbrauch, das Wasser-Futter-Verhältnis, sowie EBI und Erlös nach Futterkosten. Für diese Variablen wurden die Daten von 791 Tieren verwendet. Als Zielvariablen der Schlachtdaten ($n = 200$) fanden das Lebendgewicht, das Schlachtgewicht, die Ausschachtung, sowie die Anteile am Schlachtgewicht von Brust ohne Haut, Schenkel, Flügel, Karkasse, Abdominalfett, Leber, Herz und Magen Verwendung. Wenn der Interaktionsterm keine signifikanten Effekte der einbezogenen Eigenschaft zeigte, wurde dieser aus dem finalen Modell entfernt.

Ein Chi-Quadrat-Test mit $\alpha = 0,05$ wurde herangezogen, um die Daten der Fußballengesundheit, Gefiederverschmutzung, Sprunggelenksentzündungen und des Leberscores auf Unterschiede in den Fütterungsgruppen zu untersuchen. Die Stichprobengröße dieser Werte lag bei 200 Tieren.

3.2.5 Versuch 3: Praxisfütterungsversuch in der Aufzucht von Masthähnchen mit dem Fermentations-Trockenprodukt

Angelehnt an den ersten Durchgang des Versuches 2 (Kapitel 3.2.3) wurde das Fermentations-Trockenprodukt unter Praxisbedingungen an Masthähnchen untersucht. Der Versuch fand zeitgleich zum erwähnten Versuch am LVFZ Kitzingen auf einem zertifizierten Bioland-Betrieb statt. Das Versuchsdesign und die eingesetzten Alleinfuttermischungen entsprachen dem des ersten Durchganges des Versuches 2.

3.2.5.1 Tiere und Haltung

Insgesamt 435 Eintagsküken der Linie Hubbard (früher ISA) JA-757 wurden auf 4 Versuchsgruppen aufgeteilt und über eine Mastperiode von 8 Wochen unter Öko-Bedingungen aufgezogen. In den ersten 4 Wochen wurden die Tiere in vier Abteilen in einem Feststall unter Bodenhaltungsbedingungen gehalten. Danach erfolgte die Umstallung in einen Mobilstall, der ebenfalls in vier Versuchsabteile unterteilt war (Abbildung 7).



Abbildung 7: Mobilstall für Masthühner

3.2.5.2 Fütterung

Die achtwöchige Mast wurde wie auch im Exaktversuch am LVFZ Kitzingen in drei Fütterungsphasen gegliedert: In den ersten zwei Wochen erhielten die Tiere Starterfutter, in den folgenden vier Wochen wurde den Masthähnchen das Aufzuchtfutter 1 und in den letzten zwei Wochen vor der Schlachtung das Aufzuchtfutter 2 angeboten. Die Zusammensetzung der verschiedenen Mischfutter sind zusammen mit den nativen Riboflavin-Gehalten der Einzelfuttermittel in Tabelle 7 dargestellt, die Nährstoffzusammensetzung und die Riboflavin-Gehalte befinden sich in Tabelle 8.

3.2.5.3 Datenerhebung

Das Tiergewicht wurde in Lebenswoche 2 und 5 und danach jeweils wöchentlich erhoben. Die Wiegung erfolgt als Gruppenwiegung von je 20 (Lebenswoche 2), 5 (Lebenswoche 5) bzw. 4 Tieren (ab Lebenswoche 6). In der 6. Lebenswoche erfolgte keine Wiegung der Gruppe NATIV. In der 8. Lebenswoche wurde das Gewicht geschlechtsgetrennt erfasst. Bei der Schlachtung wurde das individuelle Schlachtgewicht von jeweils 26 männlichen und 26 weiblichen Tieren aus jeder der vier Versuchsgruppen erfasst.

Der Futtermittelverbrauch wurde durch Rückwaage des Futters jeweils zum Zeitpunkt der Gewichtserfassungen erhoben.

In der vierten Lebenswoche und bei der Schlachtung erfolgte die Erhebung der Gefiederbeschmutzung und von Fußballendermatitis nach den oben beschriebenen Schemata an 50 Tieren je Versuchsgruppe (siehe Tabelle 5 und Tabelle 6).

3.2.6 Versuch 4: Fütterungsversuch von Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations- Suspension

3.2.6.1 Tiere und Haltung

Die Versuche fanden von Januar bis November 2018 auf einem Naturland-Betrieb statt. Insgesamt 140 Elterntiere des Genotyps ISA JA 757 wurden in zwei Festställen (Ställe 1 und 2; jeweils 40 Legehennen) und zwei Mobilställen (Ställe 3 und 4; jeweils 30 Legehennen) unter Bedingungen der ökologischen Freilandhaltung gehalten. In jeder Tiergruppe befand sich ein Hahn der Rasse Bresse Gauloise. Das Platzangebot im Stall belief sich auf max. 6 Hennen/m². Der Boden war mit Dinkelspelzen eingestreut. Die Ställe verfügten über Abrollnester. Jedem Tier stand tagsüber eine mit Vogelschutznetz gesicherte Auslaufläche von mindestens 4 m² zur Verfügung. Futter wurde über Rundfuttertröge manuell verabreicht und stand ad libitum zur Verfügung. Wasser wurde über Tränkenippel ad libitum verabreicht.

Der Versuch wurde als lateinisches Quadrat (4 x 4) mit vier Versuchsmischungen, die jeder Tiergruppe einmal während vier Versuchsphasen gefüttert wurde, durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Einstellung waren die Tiere in der 18. Lebenswoche, der Versuch startete in der 27. Lebenswoche nach Stabilisierung der Legeleistung. Jede Versuchsphase dauerte 8 bis 10 Wochen und nach jeder Versuchsphase wurde die Fütterung geändert, so dass die Tiere während der gesamten Untersuchung im selben Stall verblieben. Die Reihenfolge für die Versuchsmischungen NATIV, KONV, A-NIEDRIG, A-HOCH war wie folgt: Feststall 1, Feststall 2, Mobilstall 1, Mobilstall 2 in Versuchsphase 1; Mobilstall 2, Feststall 1, Feststall 2, Mobilstall 1 in Versuchsphase 2; Mobilstall 1, Mobilstall 2, Feststall 1, Feststall 2 in Versuchsphase 3 und Feststall 2, Mobilstall 1, Mobilstall 2, Feststall 1 in Versuchsphase 4.

3.2.6.2 Fütterung

Die Futtermischungen wurden vor Versuchsbeginn von der Kaisermühle Gänheim Otmar Kaiser GmbH für die gesamte Versuchsperiode angemischt. Dabei wurde ein Prämix ohne Riboflavin-Supplementierung verwendet. Repräsentative Proben der einzelnen Futterkomponenten sowie der Futtermischungen wurden nach Standardmethoden gewonnen und durch die LUFA-ITL GmbH auf Nährwerte/Inhaltsstoffe (Methode VO (EG) 152/2009) untersucht. Der Gehalt der Futterkomponenten an Riboflavin wurde mittels HPLC (Methode DIN EN 14152:2006) ermittelt und als Riboflavin-Gehalt berechnet (Tabelle 12). Die Zusammensetzung der Grundmischung ist in Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 12: Trockensubstanz- und Riboflavin-Gehalt sowie Zusammensetzung der Grundfuttermischung im Fütterungsversuch mit Masthühner-Elterntieren

Komponente	TS (%)	Riboflavin-Gehalt (mg/kg TM)	Grundfuttermischung (%)
Mais	87,3	0,98	20,0
Weizen	87,6	0,93	16,1
Triticale	83,5	0,98	15,0
Sojakuchen	87,7	3,16	9,48
Sonnenblumenkuchen	92,2	2,68	8,0
Maiskleber	93,2	2,41	4,3
Weizenkleie	85,5	2,22	4,0
Rapskuchen	91,8	3,04	4,0
Leinkuchen	91,1	2,12	3,0
Grünmehl	92,5	12,9	2,8
Erbsen	86,6	1,48	2,1
Prämix²	96,2	1	0,5
Kräuter Geflügel 1381	81,1	1	0,015
Calciumcarbonat	NA	NA	9,9
Monocalciumphosphat	NA	NA	0,5
Natriumchlorid	NA	NA	0,06

¹ Unterhalb der Nachweisgrenze.

² Der Prämix wurde von der Firma Biomin Deutschland GmbH (Aalen, Germany) ohne Riboflavin-Supplementierung hergestellt.

NA = Nicht analysiert.

Auf Basis der Grundfuttermischung wurden vier Alleinfuttermischungen hergestellt: eine Grundmischung 1) ohne Supplementierung von Riboflavin und ausschließlich nativem Riboflavin der Futterkomponenten (NATIV), 2) mit Riboflavin-Supplementierung einer konventionellen Quelle (10,0 mg/kg Futter; Cuxavit B2 80%, Kaesler Nutrition GmbH, Cuxhaven, Deutschland) (KONV), 3) mit Riboflavin-Supplementierung der alternativen

Fermentations-Suspension in niedriger Dosierung (3,5 mg/kg Futter) (A-NIEDRIG) und 4) hoher Dosierung (10,0 mg/kg Futter (A-HOCH). Die Riboflavin-Supplementierung fand gleichzeitig mit der Zugabe des Prämixes, der Kräutermischung, des Calciumcarbonates, Monocalciumphosphates und Kaliumchlorides bei der Futterherstellung statt. Nach der Mischung wurde die Futtermischung pelletiert und anschließend granuliert.

Die Inhaltsstoffgehalte der eingesetzten Alleinfuttermischungen sowie deren Riboflavin-Gehalt am Beginn und Ende der Versuchsperiode (10 Monate nach der Futterherstellung) befinden sich in Tabelle 13. Wasser und Futter standen ad libitum zur Verfügung.

Tabelle 13: Inhaltsstoffzusammensetzung (inkl. Riboflavin-Gehalt am Versuchsstart und -ende) der Alleinfuttermischungen und der Fermentations-Suspension im Fütterungsversuch mit Masthühner-Elterntieren

Parameter	Fütterungsvariante				Fermentations-Suspension
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH	
Riboflavin am Versuchsstart (mg/kg)	2,77	9,89	5,49	11,40	497
Riboflavin am Versuchsende (mg/kg)	3,76	9,46	5,54	11,30	NA
Trockensubstanz (%)	87,2	87,7	87,1	86,4	4,1
Rohasche (%)	10,1	12,9	13,1	13,2	1,1
Rohprotein (%)	16,3	17,2	16,5	17,4	1,1
Rohfett (%)	5	5,4	5,1	5,3	<1,0
Rohfaser (%)	5,5	5,9	5,4	6,1	<0,3
Gesamtzucker (%)	3,1	3,4	3,3	3,3	<0,5
Stärke (%)	38,4	34,9	34,5	31,3	<1
NfE (%)	50,3	46,3	47	44,4	1,9
ME (MJ/kg)	11,1	10,3	10,5	10,2	0,2
Lysin (%)	0,71	0,69	0,68	0,71	<0,05
Methionin (%)	0,3	0,31	0,3	0,32	<0,05
Cyst(e)in (%)	0,3	0,3	0,29	0,31	<0,05
Threonin (%)	0,61	0,62	0,59	0,64	<0,05

NA = Nicht analysiert.

3.2.6.3 Datenerhebung

Um Effekte der Fütterung der unterschiedlichen Versuchsmischungen an denselben Tieren auszuschließen, wurde jede Versuchsphase in eine Adaptations- und Untersuchungsperiode unterteilt. Die Untersuchungsperiode beschränkte sich auf die beiden letzten Wochen jeder Versuchsphase, um eine ausreichende Anpassung der Tiere an die Versuchsmischung zu erlauben.

Die Legeleistung wurde täglich erfasst und monatlich wurden 10 zufällig ausgewählte Tiere aus jeder Versuchsgruppe gewogen. Der Riboflavin-Gehalt in den Eiern wurde an 5 Eiern je Versuchsmischung und Versuchsphase mit der oben beschriebenen Methode bestimmt. Bis auf die erste Versuchsphase wurden alle Eier, die an zwei aufeinanderfolgenden Tagen gesammelt wurden, gewogen und deren Albumen-, Dotter- und Schalengewicht bestimmt. Der Futterverbrauch wurde je Versuchsphase und Stall erfasst und in g/Tier und Tag berechnet.

In jeder Versuchsphase wurden je Versuchsgruppe 200 bis 240 Eier nach einem Standardverfahren bebrütet. Die Befruchtungsrate wurde mittels Schieren bestimmt. Die Schlupfrate wurde als Anteil geschlüpfter Küken an den befruchteten Eiern berechnet. In der ersten Versuchsphase lag die Befruchtungsrate in einer Versuchsgruppe unter 5 %, so dass für diese Gruppe keine Daten zur Befruchtungsrate angegeben werden. Aufgrund technischer Probleme der Brutmaschine konnte die Schlupffähigkeit in der vierten Versuchsphase nicht erhoben werden.

3.2.6.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SAS, Version 9.3 (Statistical Analysis Systems, Cary, North Carolina, USA). Im statistischen Modell (MIXED Prozedur) für die Legeleistung, Eigewicht und Körpergewichte diente die Alleinfuttermischung (NATIV, KONV, A-NIEDRIG und A-HOCH), die Versuchsphase (1 bis 4) und der Stalltyp (Feststall, Mobilstall) als fixe Effekte. Vor der Analyse wurden anhand von Boxplots und mittels UNIVARIATE Prozedur die Voraussetzungen für die Varianzanalyse überprüft. Mit dem Tukey's Test wurden Gruppenmittelwerte unter Annahme einer Signifikanzschwelle von $P < 0.05$ verglichen. Befruchtungs- und Schlupfrate wurden deskriptiv ausgewertet.

3.2.7 Versuch 5: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Mastputen mit dem Fermentations-Trockenprodukt

3.2.7.1 Tiere und Haltung

Die im Versuch betrachteten Puten wurden in der Aufzuchtphase von Tag 1 bis Tag 28 (nachfolgend Phase I) beobachtet. Der Versuch startete mit der Einstallung der Puteneintagsküken am 25. Juni. 2019 und endete mit der Ausstallung am 23. Juli 2019. Die Betrachtung konzentriert sich ausschließlich auf Hähne des Genotyps "B.U.T. 6", gezüchtet vom Unternehmen Aviagen, mit unkupierten Schnäbeln.

Bei abgesenktem Energiegehalt, zwei verschiedenen Aminosäurestufen und sechs unterschiedlichen Gehaltsstufen von Riboflavin in den Rationen wurden die Werte für Futtermittelverbrauch, Gewichtsentwicklung und Mortalität erhoben.

Demzufolge gab es 12 verschiedene Varianten zu betrachten (zwei Aminosäuren-Versorgungsstufen mit jeweils sechs Riboflavin-Gehaltsstufen). Die Bezeichnung der einzelnen Varianten beinhalteten als erste Zahl die Aminosäuren-Stufe und als zweite Zahl die Riboflavin-Stufe.

Die Versuchsdurchführung erfolgte zum einen in der Versuchsstation des LVFZ in Kitzingen und der HSWT in einem Versuchsstall in Zurnhausen bei Freising. Pro Standort wurden zwei Wiederholungen vorgenommen, somit waren es 24 Boxen pro Standort und insgesamt vier Wiederholungen pro Behandlung innerhalb des Versuches. Das ergab 288 Tiere pro Standort und 576 Tiere insgesamt. Um eine Vergleichbarkeit der Standorte zu gewährleisten, wurden möglichst gleiche Voraussetzungen geschaffen. Der Versuch fand an beiden Standorten zeitgleich mit identischen Futtermischungen statt.

An jeder Station wurden 12 Tiere pro Box eingestallt. Die Bodenfläche der Boxen in Zurnhausen betrug 5,25 m² und war somit auch für die Ansprüche ökologischer Tierhaltung ausreichend. Die Boxen waren mit Sägespänen eingestreut. Jede Box verfügte über eine Wärmelampe, eine Nippeltränke und einen Futterautomaten. Die Futterautomaten wurden unverwechselbar gekennzeichnet und den Boxen zugeteilt. Die Leergewichte jedes einzelnen Automaten wurden für die Berechnungen des Futtermittelverbrauches abgespeichert. Zur Gewöhnung und leichteren Aufnahme von Futter und Wasser standen den Tieren zusätzlich in den ersten Tagen Futterschalen, Eierkartons mit Futter und Stülptränken zur Verfügung (Abbildung 8).

Entsprechend der zunehmenden Größe der Putenküken wurden die Höhe der Automaten, wie auch die Höhe der Nippeltränken regelmäßig angepasst. Die Zuordnung der Versuchsgruppen erfolgte schachbrettartig in den Ställen beider Stationen, um mögliche Stalleffekte minimieren zu können. Die Ausstattung der Versuchsabteile in Kitzingen war vergleichbar mit der in Zurnhausen.

Am Standort des LVFZ wurde die Versuchsperiode bis zum 56. Lebenstag ausgedehnt (Phase II).

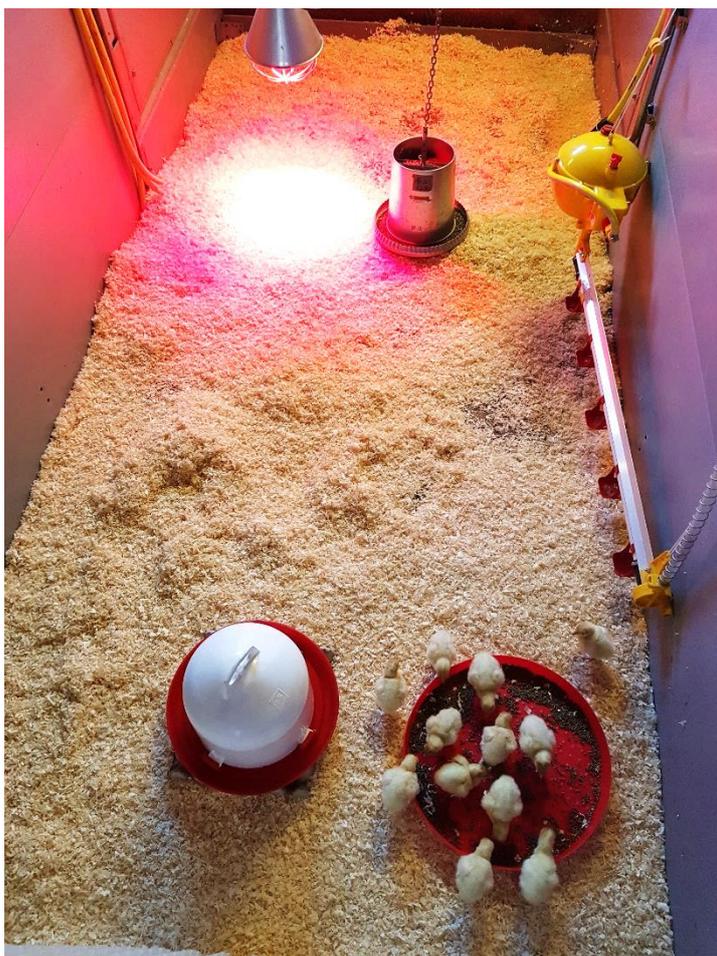


Abbildung 8: Ausstattung eines beispielhaften Versuchsabteils am Standort Zurnhausen an Tag 1 mit einer Futterschale zur Futterangewöhnung.

3.2.7.2 Fütterung

In Annahme einer 100 % Bedarfsdeckung wurden die zu erstellenden Alleinfuttermischungen, bezüglich der relevanten Inhaltsstoffe in Alleinfuttermischungen, für den Versuch ausgehend von den Empfehlungen des Zuchtunternehmens Aviagen für schnellwachsende, große Putenherkünfte für die konventionelle Aufzucht und Mast, abgeleitet (Aviagen Turkeys, 2019). Um jedoch den ökologischen Bedingungen in der Praxis näher zu kommen, wurde ein abgesenktes Energieniveau festgelegt. Ausgehend hiervon wurde eine Reduktion der Empfehlung von Aviagen für die Aufzucht von Putenhähnen schwerer Herkünfte mit hoher Fütterungsintensität vorgenommen: Anstatt von 12,3 MJ ME wurde nur ein Energiegehalt von 11,0 MJ ME/kg, also 90 % der Empfehlung, angestrebt. Entsprechend hierzu wurde auch die Ausstattung für Vitamin B₂ und weiteren relevanten Inhaltsstoffen zurückgenommen. Mit dem abgesenkten Energiegehalt des Futters machte man sich der energierichteten Futteraufnahme von Geflügel zu Nutze, um eine ausreichende Bedarfsdeckung essenzieller Aminosäuren, besonders der erstlimitierenden Aminosäure Methionin, zu erreichen.

Die Rationen basierten weiterhin auf zwei unterschiedlichen Aminosäure-Stufen. Die Stufe 1 wurde den Empfehlungen von Aviagen entsprechend mit 5,3 g pro MJ ME für Methionin eingerichtet. Daraus resultiert ein Gehalt von 5,8 g/kg Alleinfutter. Variante 2 entsprach nur noch 90 % dieses Wertes und wurde somit auf 5,1 g/kg Alleinfutter abgesenkt.

Als weiteren Faktor wurden sechs verschiedene Versorgungsstufen von Riboflavin angelegt. Diese sollten in 10 %-Schritten bis auf ein Niveau von 50% der Bedarfsdeckung - wieder laut Empfehlungen von Aviagen - reduziert werden. Dies geschah für beide Aminosäurestufen ihren Gehalten entsprechend gleich. Somit wurde eine Spanne von 8,9 mg bis 4,0 mg Vitamin B₂ pro kg Alleinfuttermischung abgedeckt (

Tabelle 14). Bei der Ausstattung der Versuchsmischungen wurde der jeweilige native Gehalt der Rohstoffe berücksichtigt. Die Aufdosierung erfolgte mit dem Fermentations-Trockenprodukt aus der *A. gossypii*-Fermentation mit hohem natürlichem Riboflavin-Gehalt der Firma Agrano. Die Zudosierung erfolgte linear von 0 % bis zum jeweiligen Zielwert.

Tabelle 14: Berechnete Zielwerte der Alleinfuttermischungen (AF) im Aufzuchtversuch mit Mastputen (Phase I)

Varianten	Energie	Methionin	Riboflavin
	MJ ME/kg AF	g/kg AF	mg/kg AF
1.1	11,0	5,8	8,9
1.2		5,8	8,0
1.3		5,8	7,2
1.4		5,8	6,3
1.5		5,8	5,4
1.6		5,8	4,5
2.1	11,0	5,1	8,0
2.2		5,1	7,2
2.3		5,1	6,4
2.4		5,1	5,6
2.5		5,1	4,8
2.6		5,1	4,0

Mit diesem Versuchsansatz sollte geprüft werden, ob bei reduzierter Aminosäurenversorgung eine reduzierte Vitamin B₂-Versorgung möglich ist.

Um eine selektive Aufnahme einzelner Futterpartikel zu vermeiden, wurden die Alleinfuttermischungen pelletiert. Gemischt und pelletiert wurde das Futter am LfL-Standort in Grub (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Prof.-Dürrwaechter-Platz 1, 85586 Poing). Es wurde eine 3 mm Matrize verwendet. Die Mischungsanteile an den Alleinfuttermischungen sind in Tabelle 15 wiedergegeben.

Tabelle 15: Zusammensetzung der Alleinfuttermischungen (in %) im Aufzuchtversuch mit Mastputen

Rohstoff	Variante	
	1.x	2.x
Sojakuchen	15,50	15,50
Sonnenblumenkuchen	15,00	12,00
Maiskleber	5,00	4,00
Kartoffeleiweiß	13,00	11,00
Weizen	20,00	25,00
Maiskleber	16,50	17,70
Sojaöl	0,70	0,50
Weizenkleie	5,00	5,00
Grünmehl	5,00	5,00
Vormischung	1,00	1,00
Calciumcarbonat	2,20	2,20
Monocalciumphosphat	0,90	0,90
Natriumchlorid	0,20	0,20
EcoVit R (Agrano)	0,00 - 0,06	0,00 - 0,05

Es wurden ökologisch erzeugte Rohstoffe oder Umstellungsware verwendet. Kartoffeleiweiß und Maiskleber stammten aus konventioneller Erzeugung, da entsprechende Öko-Qualitäten nicht verfügbar waren. Das Mineralfutter war ökokonform und eine Sondermischung für diesen Versuch ohne Riboflavin-Anteil.

Die Riboflavin-Gehalte für die Rohstoffe wurden aus der Fachsoftware "ZIFO2" herangezogen und stellen somit Tabellenwerte dar. Die Analyse der verwendeten Rohstoffe und der Versuchsmischungen erfolgte erst während des laufenden Versuchs. Sämtliche Futtermittelanalysen wurden durch die LUFA-ITL GmbH (Kiel) durchgeführt.

Die angestrebten Zielwerte der Rationen konnten nicht gänzlich eingehalten werden (Tabelle 16). Nach der Analyse wurde ersichtlich, dass der Zielwert für den Energiegehalt von 11,0 MJ ME/kg überschritten wurde und bei den tatsächlichen Mischungen zwischen

11,5 MJ ME und 11,9 MJ ME/kg Alleinfuttermischung lag. Die berechneten Methioningehalte von 5,8 g für die AS-Stufe 1, bzw. 5,1 g/kg für die AS-Stufe 2 wurden unterschritten. Auch die Riboflavin-Gehalte waren in den Futtermischungen stark verringert. Ursächlich hierfür waren die teilweise enormen Abweichungen von Tabellenwerten und den Inhaltsstoffen der verwendeten Futtermittel. Besonders entscheidend hat sich hierbei das Kartoffeleiweiß ausgewirkt. Mit einem Tabellenwert von 18 mg/kg für Riboflavin (Quelle: ZIFO2) und einem tatsächlich analysierten Wert von 0,9 mg/kg kann man die entstandenen Differenzen zwischen Ziel- und Analysewerten eindeutig begründen und somit Fehler beim Probenziehen oder bei der Analyse im Labor ausschließen. Da dieses Futtermittel für alle Varianten in gleicher Menge – 11 % in AS-Stufe 2 und 13 % für AS-Stufe 1 - in den Rationen eingesetzt wurde, ist dennoch eine Vergleichbarkeit gegeben, allerdings auf niedrigerem Niveau. Auch die vorgesehenen Abstufungen zwischen den Mischungen der Fütterungsgruppen wurden erreicht (Abbildung 9).

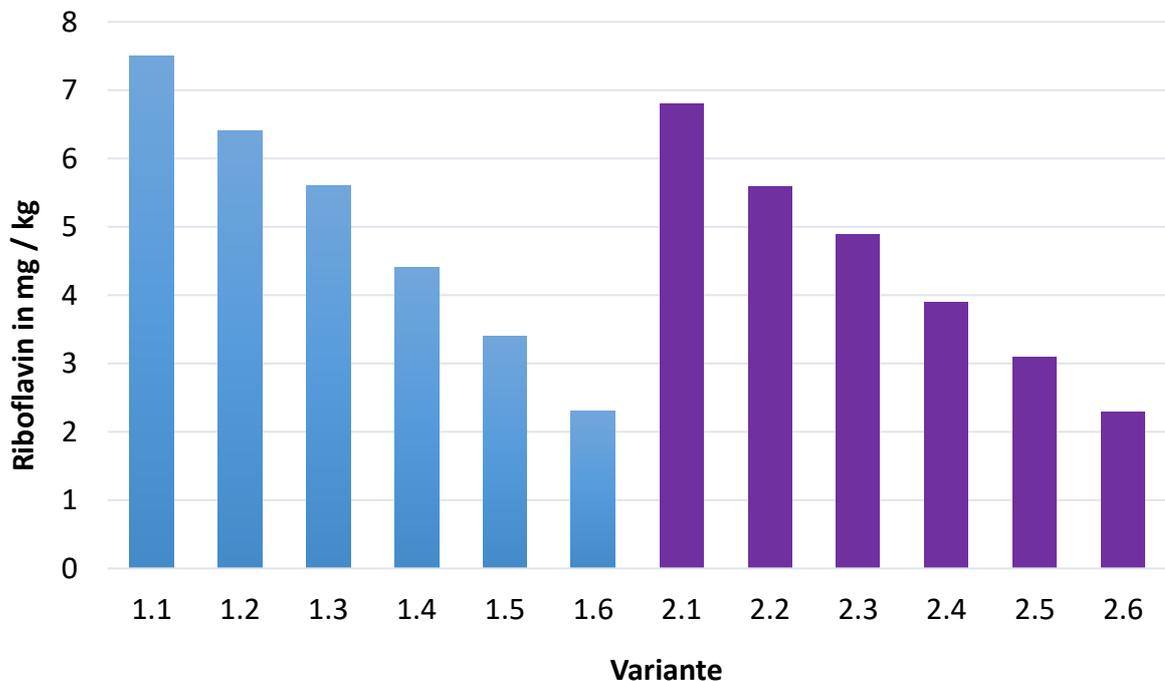


Abbildung 9: Vitamin B₂-Gehalte in den Alleinfuttermischungen im Aufzuchtversuch mit Mastputen (Phase I)

Tabelle 16: Analytierte Inhaltsstoffe und ME-Gehalte der Alleinfuttermischungen im Aufzuchtversuch mit Mastputen (Phase I)

Parameter	Fütterungsgruppe											
	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6
TM (g/kg)	903	905	904	903	906	905	898	898	902	899	900	904
Rohasche (g/kg)	73	72	73	72	72	72	71	70	69	69	70	70
Rohfett (g/kg)	67	65	64	65	66	66	61	60	62	60	60	52
Rohfaser (g/kg)	49	50	48	50	50	50	48	47	49	48	49	48
NfE (g/kg)	418	422	425	417	420	424	450	450	450	454	448	459
Stärke (g/kg)	259	258	261	258	257	267	295	292	292	293	286	289
Zucker (g/kg)	49	48	49	49	49	49	48	46	49	48	49	48
Rohprotein (g/kg)	296	296	294	299	298	293	268	271	272	268	273	275
Lysin (g/kg)	15,6	15,9	16,1	15,8	16	15,7	14	14,4	14,6	14,8	14,5	14,5
Methionin (g/kg)	5,7	5,5	5,4	5,6	5,3	5,5	4,7	4,7	5,0	5,1	4,9	5,0
Cystein (g/kg)	4,6	4,7	4,7	4,7	4,6	4,6	4,3	4,2	4,4	4,5	4,5	4,4
Threonin (g/kg)	12,6	12,5	12,6	12,6	12,4	12,4	10,9	10,9	11,4	11,5	11,5	11,6
Tryptophan (g/kg)	3,6	3,6	3,6	3,6	3,7	3,6	3,2	3,3	3,3	3,3	3,4	3,4
Vitamin B₂ (mg/100g)	0,75	0,64	0,56	0,44	0,34	0,23	0,68	0,56	0,49	0,39	0,31	0,23
AME_N (MJ/kg)	11,9	11,8	11,7	11,8	11,8	11,9	11,8	11,7	11,9	11,7	11,7	11,5
Lysin/AME_N (g/MJ)	1,31	1,35	1,38	1,34	1,36	1,32	1,19	1,23	1,23	1,26	1,24	1,26
Methionin/AME_N (g/MJ)	0,48	0,47	0,46	0,47	0,45	0,46	0,40	0,40	0,42	0,44	0,42	0,43

In jeder Box standen den Tieren Futter und Wasser jederzeit zur freien Aufnahme zur Verfügung. Zusätzlich wurde den Tieren zweimal pro Woche - dienstags und freitags - 80 g Grit pro Box mit einer Körnung von 0,6 bis 1,2 mm angeboten.

3.2.7.3 Datenerhebung

Am Tag der Einstellung wurden die Eintagsküken aus einem gemeinsamen Schlupf am Standort des LVFZ Kitzingen tierindividuell gewogen und in Gewichtsklassen von je 1 g Differenz eingeteilt. Extremtiere mit Gewichten über 63 g und unter 52 g wurden nicht in den Versuch aufgenommen. Anschließend wurde ein Mittelwert erstellt und die Tiere so auf die Boxen verteilt, dass ein möglichst identisches Gewicht für alle Boxen generiert werden konnte. So konnten Boxen-Mittelwerte von 57,0 g bis 57,6 g erreicht werden. Innerhalb der Varianten war der Unterschied nochmals geringer und lag zwischen 57,2 g und 57,5 g. Der Mittelwert für beide Standorte war exakt gleich und lag bei 57,4 g.

Nach einer Woche wurde eine Kontrollwiegung auf Boxenebene durchgeführt, um eine Entwicklung der Gruppen abschätzen zu können. Tierindividuelle Wiegeungen erfolgten wieder an Tag 14 und Tag 28 bei der Ausstellung. Der Gewichtszuwachs pro Box unter Berücksichtigung der Tierverluste und die in den jeweiligen Abschnitten verbrauchten Futtermengen pro Box dienten als Berechnungsgrundlage für das Merkmal Futteraufwand pro kg Zuwachs.

Auch die Wiegung des Futters zur Ermittlung des Futtermittelsverbrauchs wurde wöchentlich vorgenommen. Die taggenauen Futterrestmengen wurden an Tag 7, 14 und 28 abgewogen und sowohl die Restfuttermenge wie auch die erneut eingewogene Futtermenge erfasst.

Verstorbene Tiere wurden unverwechselbar gekennzeichnet, gewogen und eingefroren. Ergänzend wurden an auffällig gewordenen Tieren Organ- und Gewebsuntersuchungen durch das Labor des Tiergesundheitsdienstes Bayern e. V. (TGD) am Standort Grub durchgeführt.

3.2.7.4 Statistische Analyse

Die erhobenen Daten wurden stationsübergreifend mit dem Programm SAS nach dem GLM (= General Linear Model) statistisch ausgewertet (SAS/STAT, 1999). Es wurde ein lineares Modell verwendet und eine dreifaktorielle Varianzanalyse mit den Einflussfaktoren "Station", "Aminosäuren-Stufe", und "Vitamin B₂-Stufe" durchgeführt. Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde bei $\alpha = 0,05$ gesetzt. Eine Überprüfung von Interaktionen zwischen "Aminosäuren-Stufe" und "Vitamin B₂-Stufe" für die Merkmale der Futteraufnahme und der Mastleistung ergab keine signifikanten Effekte. Die nachfolgend dargestellten Ergebnisse beziehen sich daher auf die Effekte "Aminosäuren-Stufe" und "Vitamin B₂-Stufe".

3.2.8 Versuch 6: Fütterungsversuch von Legehennen mit dem Fermentations-Trockenprodukt

3.2.8.1 Tiere und Haltung

In einem Fütterungsversuch sollte überprüft werden, ob eine Riboflavin-Supplementierung über der von der GfE (1999) angegebenen Empfehlung von 2,5 mg Riboflavin pro kg Legehennen-Alleinfutter positive Effekte auf das Leistungsvermögen der Tiere erwarten lässt. Zur Erhöhung der Riboflavin-Gehalte in den Mischungen wurde dazu in zwei Steigerungsstufen das Produkt EcoVit R der Fa. Agrano im Vergleich zu einer nicht supplementierten Gruppe eingesetzt. Der Versuch wurde mit insgesamt 144 Lohmann Brown-plus Legehybriden gemäß den Vorgaben der EU-Ökoverordnung durchgeführt. Die Versuchsdurchführung erfolgte in der Versuchsstation Grünschwaige (HSWT-Weihenstephan).

Es wurden insgesamt 144 Legehennen der Herkunft „Lohmann brown-plus“ von einem ökologisch wirtschaftenden Legehennenbetrieb aus Bayern am 04. 09. 2019 zugekauft und eingestallt. Dieser Genotyp ist in der ökologischen Praxis weit verbreitet. Die Tiere waren zum Zeitpunkt der Einstallung in der 33. Lebenswoche. Es wurden bewusst keine Junghennen gewählt, um direkt mit Tieren in der vollen Legeleistung starten zu können, da die 1. Legephase jene mit der höchsten Legeleistung und dem voraussichtlich höchsten Riboflavin-Bedarf ist. Die Versuchsdauer war auf acht Wochen ausgelegt. Nach der Einzeltierwiegung und Kennzeichnung mittels nummerierter Fussringe wurden die Tiere gruppenweise einer der zwölf Versuchsböden zugeteilt, die sich wiederum auf drei Rundbogenhallen (Fa. agricultura modular, 8 x 8 m Außenmaß) (Abbildung 10 und Abbildung 11) verteilten. Alle Böden verfügten über einen Zugang zu einem Grünauslauf mit einer Größe von 48 m² (4 m² pro Henne x 12 Hennen pro Boden). Nach der 4. Versuchswoche wurde der Grünauslauf mit einem Rasenmäher gemäht, um das Angebot für die Tiere zu verknappen und „Schwarzauslauf-Bedingungen“ zu simulieren.



Abbildung 10: Rundbogenhalle mit dem umliegenden Auslauf für die Versuchstiere am Standort Grünschaige

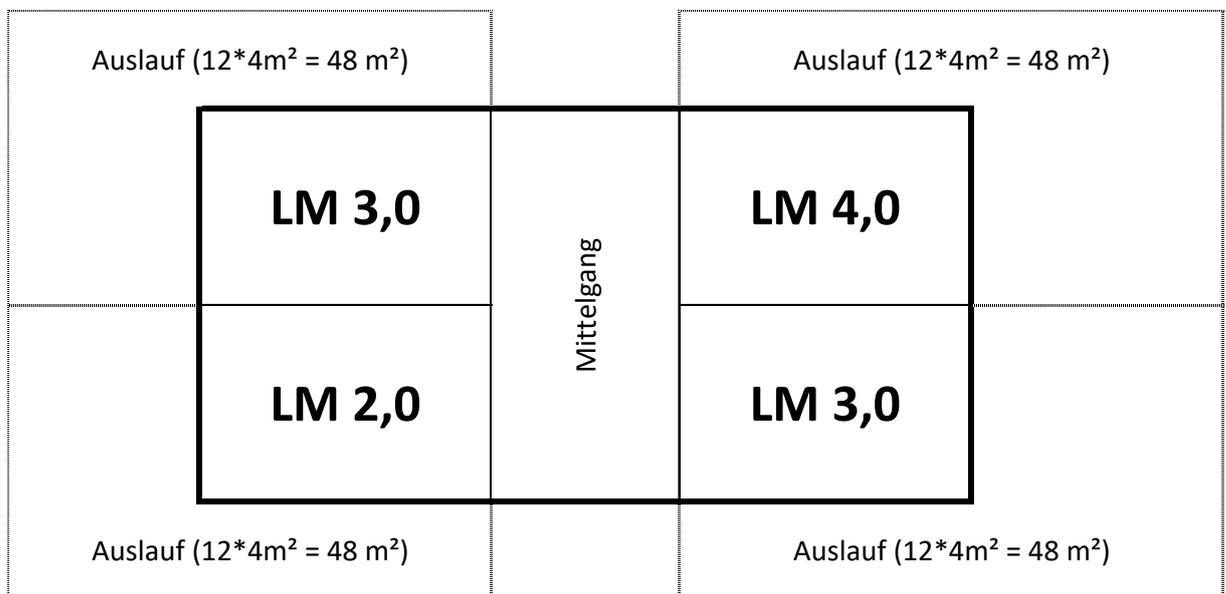


Abbildung 11: Aufbau der Versuchsställe mit den Ausläufen beispielhaft für Stall I (LM 2,0 = Versuchsgruppe mit 2 mg Riboflavin/kg Alleinfuttermischung usw.)

3.2.8.2 Fütterung

Die Empfehlungen zur Riboflavin-Konzentration je kg Legehennen-Alleinfutter werden je nach Quelle in einer Größenordnung von 2,5 mg/kg (GfE, 1999) bis 4,0 mg/kg (Lohmann, 2017) angegeben (vgl. Tabelle 1). Wie dargestellt, reichen die Gehalte der in Futtermischungen für Legehennen verwendeten Rohstoffe meist nicht aus, um die genannten Empfehlungen einzuhalten. Unter Berücksichtigung der relativ hohen Riboflavin-Gehalte im Grünfütter könnten - bei einer attraktiven Grünauslaufgestaltung - die Empfehlungen der GfE (1999) eingehalten werden. Ein Supplementierungsbedarf ist somit vor allem bei Anwendung der Versorgungsempfehlungen von Lohmann (2017) erforderlich.

Getestet wurden insgesamt drei Futtermischungen mit jeweils vier Wiederholungen (Alleinfuttermischung für die Kontrollgruppe „LM 2,0“ ohne Riboflavin-Supplementierung, „LM 3,0“ mit Supplementierung des Fermentations-Trockenproduktes in Höhe von 0,0125 % und „LM 4,0“ mit Supplementierung des Fermentations-Trockenproduktes in Höhe von 0,025 %. Die Zahl nach „LM“ steht jeweils für die angestrebte Riboflavin-Konzentration in mg/kg Legehennenfuttermischung. Die in allen Varianten eingesetzte mineralisierte und vitaminisierte Vormischung war ohne Riboflavin-Zusatz, so dass in der Gruppe „LM 2,0“ nur der native Riboflavin-Gehalt der verwendeten Rohstoffe in der Mischung enthalten war. Es wurden ausschließlich Rohstoffe aus biologischer Herkunft oder Umstellungsware eingesetzt. Die Mischungen der drei Varianten waren wie in Tabelle 17 beschrieben zusammengesetzt.

Tabelle 17: Zusammensetzung der Alleinfuttermischungen im Legehennenversuch (in %, jeweils bezogen auf die Originalsubstanz)

Rohstoff (in %)	Variante		
	LM 2,0	LM 3,0	LM 4,0
U-Weizen	27	27	27
A-Mais	23	23	23
A-Sonnenblumenkuchen (geschält)	23	23	23
A-Sojakuchen	12	12	12
Calciumcarbonat	7,5	7,5	7,5
A-Grünmehl	5	5	5
Sojaöl	1	1	1
Öko-Vormischung (ohne	0,7	0,7	0,7
Monocalciumphosphat	0,6	0,6	0,6
Natriumchlorid	0,2	0,2	0,2
EcoVit R (Fa. Agrano)	0	0,0125	0,025

In Tabelle 18 sind die analysierten Inhaltsstoffe der drei im Versuch eingesetzten Futtermischungen aufgeführt. Die Werte entsprechen überwiegend den Ergebnissen der Rationskalkulation (auf Basis 88 % TM). Die höheren Energiekonzentrationen sind in erster Linie den höheren TM-Gehalten geschuldet. Lysin stellt – wie zu erwarten – keinen limitierenden Faktor dar. Der Methioningehalt entspricht exakt den Empfehlungen von Lohmann (2017). Lediglich bei Riboflavin ergibt sich eine etwas größere Abweichung um durchschnittlich 15 % gegenüber den kalkulierten Werten (bezogen auf 88 % TM). Dennoch liegt die Konzentration in der Kontrollgruppe LM 2,0 noch knapp unterhalb der Empfehlung der GfE (1999). LM 3,0 und LM 4,0 entsprechen in etwa den Lohmann-Vorgaben. Die Inhaltsstoffgehalte und Energiegehalte der Aufwuchsproben sind in Tabelle 19 wiedergegeben.

Tabelle 18: Analytierte Inhaltsstoffe sowie Energiegehalte (jeweils bezogen auf die Originalsubstanz) der im Legehennen-Fütterungsversuch eingesetzten Alleinfuttermischungen

Merkmal	Variante		
	LM 2,0	LM 3,0	LM 4,0
Trockensubstanz (%)	91,6	91,4	91,3
Rohasche (g/kg)	13,1	11,6	12,1
Rohprotein (g/kg)	18,9	19,4	19,1
Rohfett (g/kg)	7,2	7,6	7,3
Rohfaser (g/kg)	5,5	5,7	5,5
NfE (g/kg)	46,9	47,1	47,3
Zucker (g/kg)	4,1	4,4	4,4
Stärke (g/kg)	32,4	32,7	32,1
AME_N (MJ/kg)	11,3	11,6	11,4
Riboflavin (mg/kg)	2,4	3,6	4,8
Lysin (g/kg)	0,82	0,8	0,81
Methionin (g/kg)	0,36	0,36	0,36
Cystein (g/kg)	0,31	0,31	0,31
Threonin (g/kg)	0,69	0,69	0,69
Tryptophan (g/kg)	0,25	0,25	0,25

Tabelle 19: Inhaltsstoffe und Energiegehalte (jeweils bezogen auf die Trockensubstanz) der Aufwuchsproben (Mischproben über alle Varianten) aus den Ausläufen der Legehennen

Merkmal	Probennahmeterminen			
	04.09.2019	19.09.2019	03.10.2019	17.10.2019
TS-Gehalt (g/kg)	931	926	915	937
Rohasche (g/kg)	86	86	80	86
Rohprotein (g/kg)	252	244	199	188
Rohfaser (g/kg)	199	191	209	236
Rohfett (g/kg)	59	54	48	35
NfE (g/kg)	404	425	464	455
aNDF_{om} (g/kg)	440	417	452	486
ADF_{om} (g/kg)	200	192	219	253
Zucker (g/kg)	97	124	97	84
AME_N (MJ/kg)	6,73	6,64	6,20	5,72
Riboflavin-Gehalt (mg/kg)	19,5	17,8	19,2	16,4

Die Vorlage des Legemehls erfolgte ad libitum mittels runder Futterautomaten mit ca. 17 kg Fassungsvermögen. Zudem stand in jeder Box eine Plasson-Tränke für die Wasserversorgung zur Verfügung.

3.2.8.3 Datenerhebung

Folgende Parameter wurden im Versuch täglich erfasst: Anzahl Eier und produzierte Eimasse je Box, durchschnittliches Eigewicht und Legeleistung (errechnet), Tiergesundheit, Verluste.

Wöchentliche Erhebung von: Futter- und Gritverbrauch je Box, Eigewichte, Tiergewichte. In den ersten Wochen nach Versuchsstart wurden zudem Aufwuchsproben als

Sammelprobe über alle Varianten hinweg zur Analyse auf Roh Nährstoffe und Riboflavin gesammelt, um die Aufnahme von Riboflavin über das im Grünauslauf aufgenommene Futter abschätzen zu können.

Zweimal während des Versuchs im Anstand von drei Wochen (17.10.19 und 07.11.19) wurden zwei – bezogen auf das Gewicht - mittelwertsnahe Eier pro Box zur Bestimmung der Riboflavin-Konzentration ausgewählt.

Zum Versuchsende wurden pro Box zwei Tiere mit durchschnittlichem Körpergewicht geschlachtet und anschließend wurden deren Lebern auf ihren Riboflavin-Gehalt untersucht.

3.2.8.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte als Varianzanalyse mit dem Programmpaket SAS 9.4 (Prozedur GLM). Es erfolgte eine einfaktorielle Varianzanalyse mit dem fixen Effekt «Variante». Signifikante Unterschiede wurden ab einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0,05$ mit unterschiedlichen Hochbuchstaben kenntlich gemacht.

4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

4.1 Projektteil Agrano GmbH & Co. KG

4.1.1 Identifizierung von geeigneten Mikroorganismen, Medienformulierung, Fermentation und Produktaufarbeitung

4.1.1.1 Hefen *Candida/Debaryomyces*

Mit Hefen der Gattung *Candida/Debaryomyces* konnten im Labor- und Technikumsmaßstab keine ausreichende Überproduktion von Riboflavin festgestellt werden, obwohl ein üppiges Wachstum der Hefen erfolgte. Die eingesetzten Hefen wurden zuvor auf ihre Eigenschaft der Riboflavinüberproduktion untersucht. Dazu wurden die Stämme auf synthetischen Medien kultiviert. Dabei zeigte sich, dass die Überproduktion von Riboflavin auf definierten synthetischen Medien erfolgen kann. Die maximal erreichte Riboflavinkonzentration von 35 mg/kg war jedoch im Vergleich zu Werten aus der Literatur (40 – 300 mg/kg) geringer (Goodwin und McEvoy 1959, Levine et al. 1949).

Aus der Literatur ist bekannt, dass die Überproduktion von Riboflavin durch die eingesetzten Hefestämme nur bei sehr geringen Eisenkonzentrationen (< 40 ppm) stattfinden kann (Sibirny und Voronovsky 2009). Die eingesetzten Bio-Substrate besitzen einen natürlichen Gehalt an Eisen. Es ist nicht möglich die Konzentration an Eisen in den vorhandenen Bio-Kultivierungsmedien unter 40 ppm zu halten, da damit wichtige Nährstoffe, die für das Wachstum der Hefen unabdingbar sind, limitiert wären. Methoden der Eisenfällung sind nicht mit einer ökologischen Produktion vereinbar, da dabei auf chemische Reagenzien zurückgegriffen werden muss. Es konnte gezeigt werden, dass eine Produktion von Riboflavin mit Hefen der Gattung *Candida/Debaryomyces* auf Bio-Nährmedien nicht möglich ist.

4.1.1.2 *Ashbya gossypii*

Die Bildung von Riboflavin durch den untersuchten Hefe-Pilz *Ashbya gossypii* wird nicht durch die zuvor genannten Eisenkonzentrationen beeinflusst. Für die Formulierung eines geeigneten Kultivierungsmediums wurden zunächst Versuche im Schüttelkolbenmaßstab durchgeführt. Die Rohstoffe Bio-Rohrzucker, Bio-Kartoffelprotein, Bio-Reisprotein, Bio-Sonnenblumenöl und Hefeextrakt wurden als geeignetste Rohstoffe für die Kultivierung von *Ashbya gossypii* und der Produktion von Riboflavin identifiziert. Aus diesen Rohstoffen wurde mittels weiterer Laborversuche eine geeignete Rezeptur verfasst. In Technikumsfermentern und Pilotfermentern wurden mit der formulierten Medienzusammensetzung Fermentationen durchgeführt. Während der Fermentation werden die Bioreaktoren mit sterilfiltrierter Luft belüftet und mit Rührern durchmischt. Die Kultivierungszeiten betragen dabei 48 – 120 Stunden.

Nach Abschluss der Fermentation wird der Inhalt der Fermenter bei 121 °C für 20 Minuten sterilisiert. Dadurch wird der Produktionsorganismus *Ashbya gossypii* abgetötet. Im Technikumsmaßstab konnten in der Fermentationssuspension Riboflavinkonzentrationen von 300 – 600 mg/kg erzielt werden.

4.1.1.3 Fermentation

Das Übertragen der Parameter und Ergebnisse des Technikumsfermenters auf den Pilotmaßstab funktionierte einwandfrei. Die Medienrezeptur wurde beibehalten. Die Parameter Belüftungsrate und Rührerdrehzahl wurden an den größeren Maßstab angepasst. Im Pilotmaßstab von 2.000 Liter konnten Riboflavin-Konzentrationen von 500 -800 mg/kg erreicht werden. Des Weiteren konnte der Prozess auch erfolgreich auf den Produktionsmaßstab (30.000 Liter) übertragen werden. Dabei konnten Konzentrationen von 500 – 600 mg/kg an Riboflavin produziert werden.

Die Fermentationssuspension wird im Anschluss an die Fermentation bei 121 °C für 20 Minuten sterilisiert. Nach dem Abkühlen wird der Fermenterinhalt entweder direkt in Gebinde abgefüllt oder zuvor mit Ameisensäure zur Stabilisierung und Haltbarmachung bei Raumtemperatur versetzt. Unstabilisierte Suspensionen müssen bei Temperaturen von 2 - 8 °C gelagert werden. Als Handelsname für das Produkt wurde die Bezeichnung EcoVit R gewählt.

4.1.1.4 Trocknung

Auf dem Markt besteht eine große Nachfrage nach einem Produkt, welches getrocknet und als Pulverform verfügbar ist. Aus diesem Grund wurden verschiedene Trocknungsmethoden mit der flüssigen EcoVit R Suspension evaluiert. Alle durchgeführten Trocknungstests wurden bei externen Firmen durchgeführt. Hohe Trocknungstemperaturen sind im Hinblick auf die Riboflavin-Konzentration unkritisch, da das Vitamin bis mindestens 200 °C thermisch stabil ist. Insgesamt wurden drei Trocknungsmethoden getestet.

Zum einen wurde das Aufsprühen und Trocknen (Coating) der Suspension auf Trägermaterialien erprobt. Dabei wird die Flüssigkeit auf eine temperierte Wirbelschicht eines Trägermaterials gesprüht. Die Flüssigkeit benetzt die Partikel des Trägermaterials. Die Feuchtigkeit wird über den heißen Luftstrom ausgetragen. Über diesen Prozess werden die Partikel schrittweise mit einer getrockneten Schicht des flüssigen Materials umhüllt. Als Trägermaterialien wurden die Mineralstoffe Calciumcarbonat und Kieselgur und die landwirtschaftlichen Rohstoffe Maisschrot und Weizenkleie untersucht.

Calciumcarbonat ließ sich in der Wirbelschicht nicht gleichmäßig aufwirbeln, sodass dieser Stoff ausschied. Auf Weizenkleie und Maisschrot konnte die Suspension gut aufgetragen werden, wobei die Sättigung der Materialien zu frühzeitig erfolgte. So konnten diese Rohstoffe nur mit einer Konzentration von 1,4 g Vit.B₂/kg angereichert werden. Es besteht zudem die Problematik, dass bei der Mischung von zwei Stoffen, die als Einzelfuttermittel eingeordnet sind, ein Mischfutter entstehen würde. Dies wäre nicht mit der Vorhabensbeschreibung der Entwicklung eines Riboflavin-reichen Einzelfuttermittels vereinbar.

Das Trägermaterial Kieselgur konnte gut aufgewirbelt werden. Zudem war die Sättigung der Partikel mit der EcoVit R Suspension höher, sodass Konzentrationen von 3 g Vit.B₂/kg erzielt werden konnten. Das Erzielen von stärkeren Sättigungen und damit höheren Riboflavin-Konzentrationen wäre zudem möglich. Ein solches Produkt würde laut dem Regierungspräsidium Freiburg ebenso wie die Suspension als Einzelfuttermittel eingestuft werden.

Um ein Trockenprodukt ohne den Einsatz von Trägermaterialien herzustellen wurden die Methoden der Sprühtrocknung und der Walzentrocknung getestet. Die EcoVit R Suspension wurde mit und ohne Vorkonzentrierung durch Eindampfen auf Sprühtrocknungsanlagen im Labor und Pilotmaßstab untersucht. Dabei wurden Konzentrationen von 6 – 7 g Vit.B₂/kg Endprodukt erzielt. Die Endkonzentration an Riboflavin im Trockenprodukt ist dabei ausschließlich auf die Trockensubstanz der Flüssigkeit und dessen Konzentration an Vitamin B₂ zurückzuführen, da keine Verdünnung mit einem Trägermaterial erfolgt. Bei den Versuchen konnte festgestellt werden, dass die EcoVit R Suspension während der Trocknung dazu neigt stark an den Wandungen der Trocknerapparaturen zu haften und zu verkleben. Dies ist womöglich auf den Ölgehalt und der Struktur der Biomasse der Hefe zurückzuführen. Der Prozess der Sprühtrocknung könnte aufgrund dieser Tatsache im Produktionsmaßstab problematisch werden.

Bei der Methode der Walzentrocknung wird die EcoVit R Suspension ebenso nach einem Aufkonzentrierungsschritt durch Eindampfen ohne den Einsatz von Trägerstoffen getrocknet. Die Methode wurde direkt im Produktionsmaßstab getestet und zeigte gute Ergebnisse im Hinblick auf die Ausbeute und Vitaminkonzentration. So konnten im Mittel Konzentrationen von 8,8 g Vit.B₂/kg Pulver erzielt werden. Die Futtermittelanalysewerte des Walzengetrockneten EcoVit R Pulver können in Tabelle 20 eingesehen werden.

Tabelle 20: Mittelwert von Futtermittelanalysewerten verschiedener Chargen des EcoVit R Pulvers von Großproduktionen (Walzentrocknung)

Nährwerte	Mittelwert von 3 Chargen
Wasser (4 h, 103 °C) (%)	4
Rohasche (%)	19,8
Rohprotein (N*6,25) (%)	34,6
Rohfett (%)	11,9
Rohfaser (%)	1,0
Zucker (berechnet als Saccharose) (%)	4,8
Stärke (%)	< 1,0
N-freie Extraktstoffe (%)	28,6
ME für Geflügel (MJ/kg)	9,9
Vitamine	Mittelwert von 4 Chargen
Vitamin B₂/Riboflavin (%)	0,88
Aminosäuren	Mittelwert von 3 Chargen
Lysin (%)	1,19
Methionin (%)	0,3
Cystein (%)	0,28
Threonin (%)	1,0
Mineralstoffe	Messwert I. Charge
Natrium (%)	1,02
Calcium (%)	0,17
Magnesium (%)	0,36
Kalium (%)	8,56
Schwefel (%)	0,73
Phosphor (%)	0,78

Aus Tabelle 20 wird deutlich, dass das EcoVit R Pulver eine komplexe Nährstoffzusammensetzung aus Protein, Fett, Kohlenhydraten, Mineralstoffen und natürlichem Riboflavin besitzt. Daher kann das Produkt auch neben seinem Vitamin B₂ Charakter eine Quelle für wichtige Nährstoffe darstellen. In der praktischen Geflügelfütterung wäre die Einmischrate des EcoVit R Pulver, im Hinblick auf eine Vitamin B₂ fokussierte Dosierung, jedoch zu gering, um einen nennenswerten Beitrag zur Nährstoffversorgung der Tiere beizutragen.

4.1.2 Einmischen in Futtermittel und Wiederfindungsrate

Sowohl flüssiges als auch pulverförmiges Produkt wurde in Futtermittel für Geflügel eingemischt. Die Mischungen wurden an der Kaisermühle Gänheim (Otmar Kaiser GmbH), einem Bio-Kraftfutterwerk, durchgeführt. Es wurden jeweils mindestens 1 Tonne Futter gemischt. Die eingesetzten Premixe enthielten kein zugesetztes Vitamin B₂. Das flüssige Produkt wurde während dem Mischvorgang direkt aus Kanistern in den Mischer eingebracht. Die trockene pulverförmige Variante wurde zuvor mit dem eingesetzten Premix händisch vermischt und anschließend direkt beim Mischvorgang in den Mischer eingebracht. Mit dem konventionellem pulverförmigen Vitamin B₂-Präparat, welches als Positivkontrolle dient, wurde ebenso verfahren.

Im Zuge des Fütterungsvorversuches wurde Legehennenfutter und Broilerfutter gemischt. Als Vergleich zum Futter, welches die Bio-Fermentersuspension (Bio-B₂) enthielt, wurde konventionelles Vitamin B₂ Pulver (konventionelles B₂) eingemischt. Von jeder Variante wurden 6 Stichproben analysiert. Die Analyseergebnisse sind in Tabelle 21 einzusehen. Der Zielwert an Vitamin B₂ lag bei 8 mg/kg bei Legehennenfutter und 10 mg/kg bei Broilerfutter.

Tabelle 21: Analyseergebnisse der Riboflavin-Konzentration von 6 Einzelproben der jeweiligen Futterarten, mit konventionellem Vitamin B₂ und der EcoVit R-Fermentersuspension sowie dessen Mittelwert, Standardabweichung (SD) und Variationskoeffizient (VK)

Futterart	Einzelproben (mg/kg OS)						Mittelwert Einzel- proben (mg/kg OS)	SD (mg/kg OS)	VK (%)
Legehennen konventionelles B₂	4,54	3,58	5,19	4,47	5,99	4,64	4,74	0,80	17,0
Legehennen Suspension	6,78	6,3	7,06	6,4	5,95	6,09	6,43	0,43	6,7
Broiler konventionelles B₂	6,6	8,48	7,55	7,09	6,84	8,33	7,48	0,78	10,5
Broiler Suspension	10,1	9,76	9,84	10,5	9,6	10,2	10,00	0,35	3,5

Anhand der in Tabelle 21 dargestellten Daten der Abweichung von Einzelproben gleicher Art, kann gezeigt werden, dass die analytische Methode der Riboflavin-Bestimmung (DIN EN 14152), durchgeführt von einem dafür akkreditierten Untersuchungslabor (Methode VDLUFA III 13.9.1: 2006 (mod.)), bei geringen Konzentrationen und der Matrix Futtermittel recht ungenau ist. So wurden bei Mehrfachbestimmungen Abweichungen von 6,7 – 17 % gemessen. Laut DIN EN 14152 beträgt die Vergleichsstandardabweichung bei Getreiden 7,6 – 16,3 %, was den berechneten Abweichungen aus den im Projekt ermittelten Analysen fast entspricht. Diese Standardabweichung muss daher beim Vergleichen von Daten berücksichtigt werden. Zudem wird deutlich, dass die mit EcoVit gemischten Futtermittel geringere Abweichungen in der Riboflavin-Konzentration als die mit konventionellem Riboflavin-Pulver gemischten Futtermittel besitzen.

Auch die angestrebten Zielkonzentrationen an Vitamin B₂ sind bei den mit EcoVit R gemischten Futtermittel besser erreicht worden. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, dass EcoVit R mit einer deutlich höheren Einmischrate, als das hochkonzentrierte konventionelle Riboflavin-Pulver, in das Futter eingebracht wird. Zudem wurde das EcoVit R in diesem Versuch als Flüssigkeit in das Futter zugesetzt. Dadurch ist eine bessere Verteilung des Produkts in der Futtermittelmatrix gegeben.

4.1.3 Formulierung und Untersuchung der Lagerfähigkeit der Suspension und des Pulvers

Als Handelsname für das Riboflavin-reiche Bio-Fermentationserzeugnis wurde die Bezeichnung EcoVit R gewählt. Für die Auslieferung der Fermentersuspension wurden Gebindegrößen von 10 kg in PE-Kanistern oder 900 kg IBC festgelegt. Für den Vertrieb des flüssigen Produktes hat sich eine mit Ameisensäure stabilisierte Form bewährt. Die stabilisierte Form, EcoVit R st, kann bei Temperaturen bis 22 °C für mindestens 8 Wochen gelagert werden. Die native Form, EcoVit R, muss hingegen bei Temperaturen von 2 – 8 °C gelagert werden. Dazu wäre ein gekühlter Transport, sowie ein Kühllager beim Abnehmer notwendig.

Die getrocknete Formulierung, EcoVit R Pulver, wird in Verpackungseinheiten von 10 kg in reißfesten PE-Säcken in Umkartons angeboten. Die Mindesthaltbarkeit beträgt bei Temperaturen bis 22 °C 6 Monate.

Die auf die Lagerfähigkeit zu untersuchenden Proben wurden in Gebinden gelagert, die auch für dessen Vermarktung vorgesehen sind.

Tabelle 22: Ergebnisse der Lagertests mit EcoVit R, EcoVit R st und EcoVit Pulver unter Angabe der Gebindeart, Lagertemperatur, Lagerdauer und Konzentration an Riboflavin

Nr.1 Suspension Kanister	4°C	Nr.2 Suspension Kanister	4°C	Nr.3 Suspension Kanister	4°C	Nr.4 Suspension Kanister stabilisiert	22 °C
Lagerdauer (Tage)	Vit.B ₂ (mg/kg)	Lagerdauer (Tage)	Vit.B ₂ (mg/kg)	Lagerdauer (Tage)	Vit.B ₂ (mg/kg)	Lagerdauer (Tage)	Vit.B ₂ (mg/kg)
0	555	0	448	0	694	0	694
78	521	24	454	98	672	98	690
86	497	59	445				
Nr.5 Suspension IBC	4°C	Nr.6 Suspension IBC Stabilisiert	4°C	Nr.7 Pulver PE-Sack	30°C		
Lagerdauer (Tage)	Vit.B ₂ (mg/kg)	Lagerdauer (Tage)	Vit.B ₂ (mg/kg)	Lagerdauer (Tage)	Vit.B ₂ (mg/kg)		
0	606	0	525	0	8600		
189	602	245	500	202	8820		

In Tabelle 22 sind Ergebnisse von Lagertests im Hinblick auf die Riboflavin-Konzentration aufgeführt. Sowohl in der unstabilisierten als auch in der mit Ameisensäure stabilisierten Form, sind nach einer Lagerdauer von bis zu 245 Tagen (8 Monaten) bei Temperaturen von 4 °C kaum Verluste an der Riboflavin-Konzentration messbar. Die geringen Abweichungen in der analysierten Konzentration könnten, wie zuvor beschrieben, auf die Messungenauigkeit der Analysemethode zurückzuführen sein. Bei der mit Ameisensäure stabilisierten Form konnte bei Raumtemperatur (22 °C) auch nach 98 Tagen (3 Monaten) kein nennenswerter Abbau der Riboflavin-Konzentration gemessen werden. Die Lagerung des EcoVit R Pulvers bei Temperaturen von 30 °C für bis zu 202 Tage (7 Monate) erscheint

unproblematisch. Es konnte sogar eine höhere Vitamin B₂ Konzentration als vor der Lagerung gemessen werden, was mit der Messungenauigkeit der Analysemethode erklärt werden kann. Wie in Tabelle 23 eingesehen werden kann, haben sich auch die Nährwertanalysen des getrockneten Einzelfuttermittels nicht in bedeutender Weise verändert. Sensorische Anzeichen eines Verderbs oder einer mikrobiellen Belastung konnte in keiner der Lagerversuche festgestellt werden. Eine Lagerung der Suspension ist jedoch nur gekühlt oder nach vorheriger Stabilisierung mit Ameisensäure bei Raumtemperatur möglich. Unstabilisierte flüssige Produktmuster zeigten bei Unterbrechung der Kühlung und Lagerung bei Temperaturen von über 22 °C schon nach drei Tagen einen mikrobiellen Verderb.

Tabelle 23: Ergebnisse der Lagerung einer Charge EcoVit R Pulver nach 202 Tagen bei 30 °C - Analyse der Nährstoffgehalte.

Parameter	Startwerte	Nach 202 Tagen Lagerung
Wasser (%)	6,6	6,8
Rohasche (%)	17,1	16,4
Rohprotein (%)	30,4	30
Rohfett (%)	14	13
Rohfaser (%)	1,1	0,5
Gesamtzucker (%)	7,5	6,3
Stärke (%)	1	2,6
N-freie Extraktstoffe (%)	31,5	33,3
ME für Geflügel (MJ/kg)	10,5	10,4
Riboflavin (mg/kg)	8600	8820
Lysin (%)	1,08	1,07
Methionin (%)	0,28	0,3
Cystein (%)	0,19	0,22
Threonin (%)	0,93	0,93

Tabelle 24: Ergebnisse der Lagerung von nativem Geflügelfutter, Alleinfutter mit konventionellem Vitamin B₂ und EcoVit R

Alleinfuttermittel Riboflavinquelle	Riboflavin-Gehalt (mg/kg)	Riboflavin-Gehalt nach 10 Monaten Lagerung (mg/kg)
Natives Futtermittel ohne Riboflavinzugabe	2,77	3,76
Futtermittel mit Zugabe von konventionellem Riboflavin- Pulver (10 ppm)	9,89	9,46
Futtermittel mit Zugabe von EcoVit R (3,5 ppm)	5,49	5,54
Futtermittel mit Zugabe von EcoVit R (10 ppm)	11,40	11,30

Mit flüssigem EcoVit R gemischte Futtermittel hatten sich nach 10 Monaten Lagerung sensorisch nicht verändert. Die Konzentration an mit dem EcoVit R eingemischtem Riboflavin veränderte sich während der Lagerung im Mischfuttermittel nur geringfügig. Die Ergebnisse der Lagerversuche mit gemischten Futtermitteln sind in Tabelle 24 dargestellt. Die Ergebnisse zeigen, dass Vitamin B₂ welches durch EcoVit R in Futtermittel eingebracht wurde, genauso wie das native Riboflavin des Mischfutters, als auch das konventionelle Vitamin B₂ Pulver nach 10 Monaten Lagerung stabil bleibt.

4.2 Projektteil FiBL Deutschland e.V.

4.2.1 Fütterungs-Vorversuche zur Äquivalenz der Fermentations-Suspension

In zwei Vorversuchen an Legehennen und Masthähnchen sollte geklärt werden, ob die von der Firma Agrano entwickelte Fermentations-Suspension EcoVit R im Hinblick auf Akzeptanz, Tiergesundheit, physiologische und agronomische Leistungsparameter äquivalent ist zu einer konventionellen Riboflavin-Quelle auf Basis der Fermentation genetisch veränderter Mikroorganismen.

Es hat sich gezeigt, dass die Akzeptanz der Futtermischungen mit der Fermentations-Suspension sowohl bei Legehennen als auch bei Masthühnern mit der Standard-Riboflavin-Variante gegeben ist. Die Futtermischungen mit der Fermentations-Suspension wurden gleich gut oder sogar besser aufgenommen als die Futtermischungen mit dem Riboflavin-Standard. Somit konnte die Entscheidung getroffen werden, mit diesem Bio-Riboflavin-Produkt (Fermentationssuspension) die Futtermischungen für die weiteren

Fütterungsversuche herzustellen. Ergebnisse zum Futtermittelverbrauch, der Legeleistung und Gewichtsentwicklung bei Legehennen sowie zum Futtermittelverbrauch und der Tageszunahme sind in den folgenden Tabellen dargestellt (Tabelle 25 und Tabelle 26).

Tabelle 25: Futtermittelverbrauch, Ei-Anzahl und Gewichtszunahme in den beiden Legehennen-Durchgängen des Vorversuches

Riboflavin-Quelle	Gruppe	Anzahl Tiere	Futtermittelverbrauch		Ei-Anzahl		Gewichtszunahme	
			g/ Tier/ Tag	Mittelwert	Eier/ Tag/ Gruppe	Mittelwert	g/ Durchgang	Mittelwert
Durchgang 1			Versuchszeitraum: 23.11.17-06.12.17					
Konventionelles Riboflavin	1	20	102,3	106,9	12	12	207,5	192,2
	2	18	111,6		12		176,9	
Riboflavin aus Fermentations-Suspension	3	20	125,0	126,5	14	14	141	103,75
	4	20	128,0		14		66,5	
Durchgang 2			Versuchszeitraum: 07.12.17-20.12.17					
Riboflavin aus Fermentations-Suspension	1	20	133,4	141,0	7	7	29,5	5,9
	2	16	148,6		7		17,7	
Konventionelles-Riboflavin	3	20	142,3	147,3	9	12	6,0	2,0
	4	20	152,3		14		10,0	

Tabelle 26: Futterverbrauch und Gewichtszunahme in den drei Masthühner-Durchgängen des Vorversuches

Riboflavin-Quelle	Gruppe	Anzahl Tiere	Futterverbrauch		Gewichtszunahme	
			g/Tier/Tag	Mittelwert	g/Tier/Tag	Mittelwert
Durchgang 1		Versuchszeitraum: 30.11.17 -13.12.17				
Konventionelles Riboflavin	5	21	42,1	41,7	17,3	17,4
	6	20	41,2		17,5	
Riboflavin aus Fermentations-Suspension	7	21	40,9	40,8	17,0	16,9
	8	20	40,7		16,7	
Durchgang 2		Versuchszeitraum: 14.12.17 -27.12.17				
Konventionelles Riboflavin	5	21	76,7	76,85	23,3	23,9
	6	20	77,0		24,4	
Riboflavin aus Fermentations-Suspension	7	21	74,9	74,2	24,6	23,6
	8	20	73,4		22,6	
Durchgang 3		Versuchszeitraum: 28.12.17 -10.1.18				
Konventionelles Riboflavin	5	21	112,9	112,55	37,9	37,8
	6	20	112,2		37,6	
Riboflavin aus Fermentations-Suspension	7	21	112,9	112,3	38,7	39,9
	8	20	111,7		41,0	

4.2.2 Versuch I: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension

4.2.2.1 Leistungsparameter

Tiere der Gruppe A-HOCH zeigten ein höheres Lebendgewicht am Ende der Mast als Tiere, die ohne Riboflavin-Supplementation gefüttert wurden (NATIV) oder mit Riboflavin-Supplementation der alternativen Quelle in niedriger Stufe (A-NIEDRIG) ($P < 0,05$; Tabelle 27). Zwischen den beiden Gruppen mit hoher Riboflavin-Supplementierung (A-HOCH und KONV) zeigte sich hingegen kein Unterschied zwischen den Riboflavin-Quellen ($P > 0,05$). Die Entwicklung der Körpergewichte während der Aufzucht- und Mastphase ist in Abbildung 12 dargestellt. Die entsprechenden Tageszunahmen der Gruppen A-HOCH und KONV betragen 36,1 und 35,3 g ($P > 0,05$) und unterschieden sich zu den beiden anderen

Versuchsgruppen mit niedrigerer Riboflavin-Supplementierung ($P < 0,05$; Tabelle 27). Die Entwicklung der täglichen Zunahme während der Untersuchungsperiode von Woche 1 bis 9 zeigt Tabelle 28. In der ersten Lebenswoche zeigten Tiere der A-HOCH-, aber nicht der KONV-Gruppe, höhere tägliche Zunahmen als die Gruppe ohne Riboflavin-Supplementierung (NATIV) ($P < 0,05$). In den folgenden Wochen bis zur sechsten Lebenswoche waren die Tageszunahmen der Gruppe A-HOCH höher als die aller anderen Gruppen ($P < 0,05$). Ab der siebten Lebenswoche gab es keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen mehr ($P > 0,05$). Die Uniformität am Ende der Mastperiode des ersten Durchganges betrug 40,8; 49,5; 42,4 und 46,3% für die Gruppen NATIV, KONV, A-NIEDRIG bzw. A-HOCH. Die entsprechenden Werte der Uniformität für den zweiten Durchgang waren 40,7; 44,1; 46,2 und 44,1%.

Tiere der A-HOCH- und KONV-Gruppe verbrauchten mehr Futter als beide andere Gruppen ($P < 0,05$; Tabelle 27). Im Gegensatz dazu unterschied sich die Futterverwertung nicht ($P > 0,05$). Die Gruppen A-HOCH und KONV hatten einen höheren Wasserverbrauch als A-NIEDRIG, während ein Unterschied auch zwischen A-NIEDRIG und A-HOCH gezeigt werden konnte ($P < 0,05$). Das Wasser-Futter-Verhältnis variierte zwischen den Gruppen in einem engen Bereich zwischen 1,93 und 1,96 ml/g ($P > 0,05$). Die Mortalität schwankte zwischen 2,09 und 5,24% ($P > 0,05$), wobei in allen Gruppen mehr als 40% der gesamten Todesfälle in der ersten Lebenswoche auftraten. Der Europäische Broiler Index (EBI) unterschied sich nur zwischen den beiden Gruppen mit der Riboflavin-Supplementierung der alternativen Quelle ($P > 0,05$). Numerisch wiesen A-HOCH (2,71 €/Tier) und KONV (2,67 €/Tier) einen höheren Erlös nach Futterkosten als NATIV (2,58 €/Tier) und A-NIEDRIG (2,56 €/Tier) ($P > 0,05$).

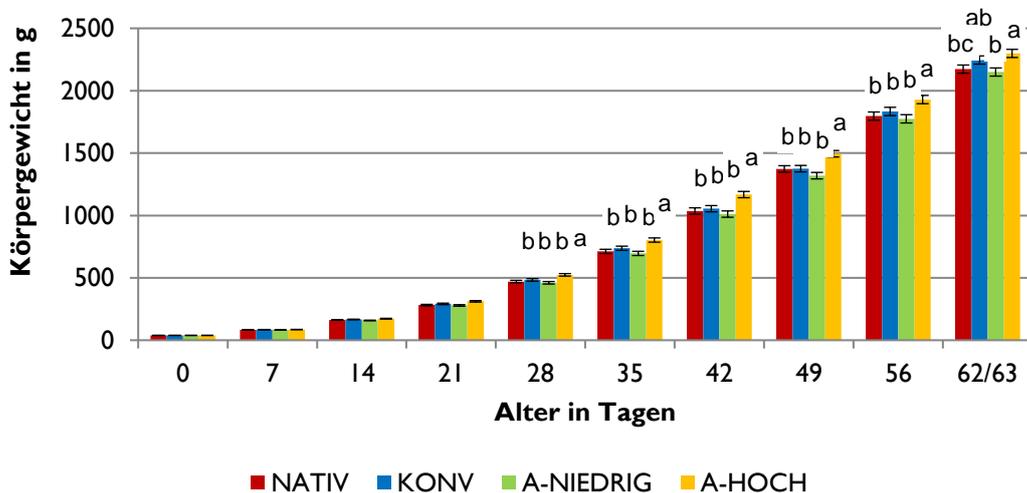


Abbildung 12: Körpergewichtsentwicklung des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension (LS-Means, ± SE)

Tabelle 27: Leistungsparameter des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension (LS-Means)

Parameter	Versuchsgruppe				SE
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH	
Körpergewicht (g)	2173 ^{bc}	2246 ^{ab}	2150 ^c	2299 ^a	32,8
Tageszunahme (g)	34,1 ^{bc}	35,3 ^{ab}	33,8 ^c	36,1 ^a	0,5
Futtermittelverbrauch (g/Tier)	5101 ^c	5256 ^{ab}	5018 ^c	5430 ^a	82,0
Futtermittelverwertung (kg/kg)	2,40	2,38	2,38	2,41	0,02
Wasserverbrauch (ml)	9971 ^{bc}	10151 ^{ab}	9748 ^c	10441 ^a	138
Wasser / Futtermittelverhältnis (ml/g)	1,96	1,94	1,95	1,93	0,03
Mortalität (%)	2,09	4,20	5,24	4,38	1,41
Mortalität Tag 0 bis 7 (%)	1,31	1,84	3,45	1,87	1,25
Europäischer Broiler Index (Punkte¹)	143 ^{ab}	145 ^{ab}	137 ^b	147 ^a	3
Erlös nach Futtermittelnkosten (€/Tier²)	2,58	2,67	2,56	2,71	0,05

^{a,b,c} Unterschiedliche Buchstaben innerhalb der Zeilen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p < 0,05$).

¹ Europäischer Broiler Index: Tageszunahme (g) x Überlebensrate (%) / Futtermittelverwertung (kg Futtermittel/kg Gewichtszunahme) x 10.

² Erlös nach Futtermittelnkosten: Körpergewicht (kg) x 2,65 € - Futtermittelverbrauch (kg) x 0,56 €
SE = Standardfehler.

Tabelle 28: Entwicklung der täglichen Zunahmen (g/Tag) des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension (LS-Means)

Woche	Versuchsgruppe				SE
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH	
1	6,2 ^{bc}	6,6 ^{ab}	6,1 ^c	6,7 ^a	0,2
2	11,3 ^b	11,6 ^b	10,9 ^b	12,4 ^a	0,3
3	17,1 ^b	17,9 ^b	17,2 ^b	19,8 ^a	0,5
4	27,0 ^b	27,4 ^b	26,0 ^b	30,3 ^a	0,7
5	34,5 ^b	36,3 ^b	33,6 ^b	39,8 ^a	1,2
6	46,3 ^b	45,3 ^b	45,1 ^b	52,1 ^a	1,9
7	48,1	45,9	43,3	46,7	2,9
8	60,5	65,5	65,8	62,1	2,8
9	58,1	63,6	57,9	56,9	3,3

^{a,b,c} Unterschiedliche Buchstaben innerhalb der Zeilen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p < 0,05$).
SE = Standardfehler.

4.2.2.2 Schlachtparameter

Auf Grund der zufälligen Auswahl unterschieden sich die Lebend- und Schlachtgewichte der für die Erfassung der Schlachtparameter untersuchten Tiere von denen der oben beschriebenen Gruppenmittelwerte. In der Stichprobe von 100 Tieren je Versuchsgruppe hatten die A-NIEDRIG-Tiere geringere Gewichte als die aller anderen Tiere ($P < 0,05$; Tabelle 29). Mit 74,4% war die Ausschachtung in der Gruppe A-HOCH höher als mit 73,3% in den anderen Gruppen ($P < 0,05$). Der prozentuale Brustfleischanteil von A-NIEDRIG war niedriger als bei den beiden Kontrollgruppen ($P < 0,05$), unterschied sich jedoch nicht signifikant von A-HOCH ($P > 0,05$). Bei den Schenkel-, Flügel- und Kakassengewichtsanteilen ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen ($P > 0,05$). Die A-Hoch Gruppe hatte mit 2,01% einen höheren Anteil an Abdominalfett als KONV und A-NIEDRIG ($P < 0,05$). NATIV und A-HOCH hatten einen höheren Leberanteil als die anderen beiden Gruppen ($P < 0,05$). Den höchsten Leberscore mit 2, welches auf ein Fettlebersyndrom hinweist, wurde in P-C gefunden, gefolgt von N-C und A-NIEDRIG ($P < 0,01$, Tabelle 29). Die Gruppen unterscheiden sich nicht im Herzanteil ($P > 0,05$, Tabelle 29). Bezogen auf das Schlachtgewicht hatte A-HOCH ein niedrigeres Magengewicht als die anderen Behandlungen ($P < 0,05$).

Tabelle 29: Schlachtparameter des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension (LS-Means)

Merkmal	Versuchsgruppe				SE
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH	
Körpergewicht (g)	2315 ^a	2305 ^a	2175 ^b	2316 ^a	29,4
Schlachtgewicht (SG, g)	1694 ^a	1691 ^a	1595 ^b	1725 ^a	24,0
Ausschlachtung (%)	73,3 ^b	73,3 ^b	73,3 ^b	74,4 ^a	0,3
Brustanteil (% SG)	23,7 ^a	23,6 ^a	22,9 ^b	23,4 ^{ab}	0,2
Schenkelanteil (% SG)	30,9	31,1	31,1	30,7	0,17
Flügelanteil (% SG)	11,4	11,5	11,6	11,4	0,08
Karkasse (% SG¹)	28,3	28,0	28,3	28,3	0,17
Abdominalfett (% SG)	1,85 ^{ab}	1,77 ^b	1,75 ^b	2,01 ^a	0,07
Leber (% SG)	2,66 ^b	2,79 ^a	2,83 ^a	2,67 ^b	0,04
Herz (% SG)	0,48	0,49	0,49	0,49	0,01
Magen (% SG)	1,54 ^a	1,63 ^a	1,62 ^a	1,43 ^b	0,04

^{a,b,c} Unterschiedliche Buchstaben innerhalb der Zeilen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p < 0,05$).

SE = Standardfehler.

SG = Schlachtgewicht.

¹ Einschließlich Hals.

4.2.2.3 Gesundheits- und Tierwohlparameter

Der höchste Anteil an Lebern, die Score 2 und damit ein Anzeichen von Verfettung zeigten, wurde in der Gruppe KONV gefunden ($P < 0,01$, Tabelle 30). Der Anteil stark ausgeprägter Fußballendermatitis war in allen Gruppen gering ($p > 0,05$), auch bedingt durch eine geringere als in der Praxis übliche Besatzdichte. In Bezug auf die Federverschmutzung wurden Scores 2 und 3 nicht beobachtet und folglich zeigten sich keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ($P > 0,05$).

Tabelle 30: Chi-Quadrat-Test der Leberfarbe und Fußballendermatitis des Fütterungsversuches von Masthühnern mit der Fermentations-Suspension

Merkmal / Score	Versuchsgruppe			
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH
Leberfarbe¹	n=99	n=99	n=96	n=97
0	28	19	39	46
1	57	64	48	45
2	14	16	9	6
$\chi^2 = 22,58; p < 0,01$				
Fußballendermatitis²	n=198	n=198	n=192	n=194
0	191	192	186	178
1	7	6	6	16
2	0	0	0	0
$\chi^2 = 8,65; p < 0,05$				

¹ Score 0 = dunkelrot bis Score 2 = gelblich, veränderte Struktur.

² Score 0 = unverändert bis Score 2 = starke Fußballendermatitis.

4.2.3 Versuch 2 – Durchgang I: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

4.2.3.1 Leistungsparameter

Im ersten Durchgang zeigten Tiere der Gruppe NATIV (Riboflavin-Gehalt von 2,86 mg/kg im Starterfutter) in der zweiten Lebenswoche Symptome einer unzureichenden Riboflavin-Versorgung. Beim Auftreten der ersten Verhaltensauffälligkeiten (Bewegungsstörungen, Lahmheit, Laufen auf Gelenken) wurden 6 Küken (3 männliche und 3 weibliche) am 12. Lebenstag zur Untersuchung durch den Geflügelgesundheitsdienst (Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., Poing) gesandt. Bei gutem Ernährungszustand und keinen weiteren festgestellten Organbefunden, wurden gering- bis mittelgradige subakute Degenerationen der Ischiasnerven festgestellt, die den Verdacht auf einen Mangel an Riboflavin unterstützten. Infolgedessen wurde das Futter dieser Gruppe daher ab diesem Zeitpunkt auf einen Riboflavin-Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht (Mischung aus den vier Versuchsgruppen). Im Aufzuchtfutter 1 und 2 wurde der Gehalt entsprechend auf 5,39 mg/kg und 5,74 mg/kg erhöht. Nach Anpassung des Riboflavin-Gehaltes wurden ab der dritten Lebenswoche keine Verhaltensauffälligkeiten in der NATIV-Gruppe mehr beobachtet.

In Abbildung 13 ist die Entwicklung der Körpergewichte während der 8-wöchigen Mastperiode dargestellt. Das Einstallgewicht (Tag 0) belief sich auf 44,1 g. Bei der Wiegung in der zweiten Lebenswoche, also bevor der Riboflavin-Gehalt der NATIV-Gruppe aufgewertet wurde, wiesen die NATIV-Tiere mit 254,4 g ein geringeres Körpergewicht auf als die der anderen drei Versuchsgruppen mit höheren Riboflavin-Gehalten (NIEDRIG = 278,4 g; MITTEL = 271,9 g; HOCH = 274,5 g; $P < 0,05$). In Woche 3, also eine Woche, nachdem das Futter der NATIV-Gruppe im Riboflavin-Gehalt erhöht wurde, unterschieden sich nur die NATIV-Gruppe (485,0 g) von der NIEDRIG-Gruppe (518,6 g) ($P < 0,05$), nicht aber von den beiden anderen Gruppen (504,0 g; $P > 0,05$). Während der folgenden Lebenswochen gab es keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen mehr ($P > 0,05$). Das Mastendgewicht belief sich auf 2518,4 g (NATIV), 2610,1 g (NIEDRIG), 2584,9 g (MITTEL) bzw. 2587,2 g (HOCH) ohne Unterschiede zwischen den Gruppen ($P > 0,05$).

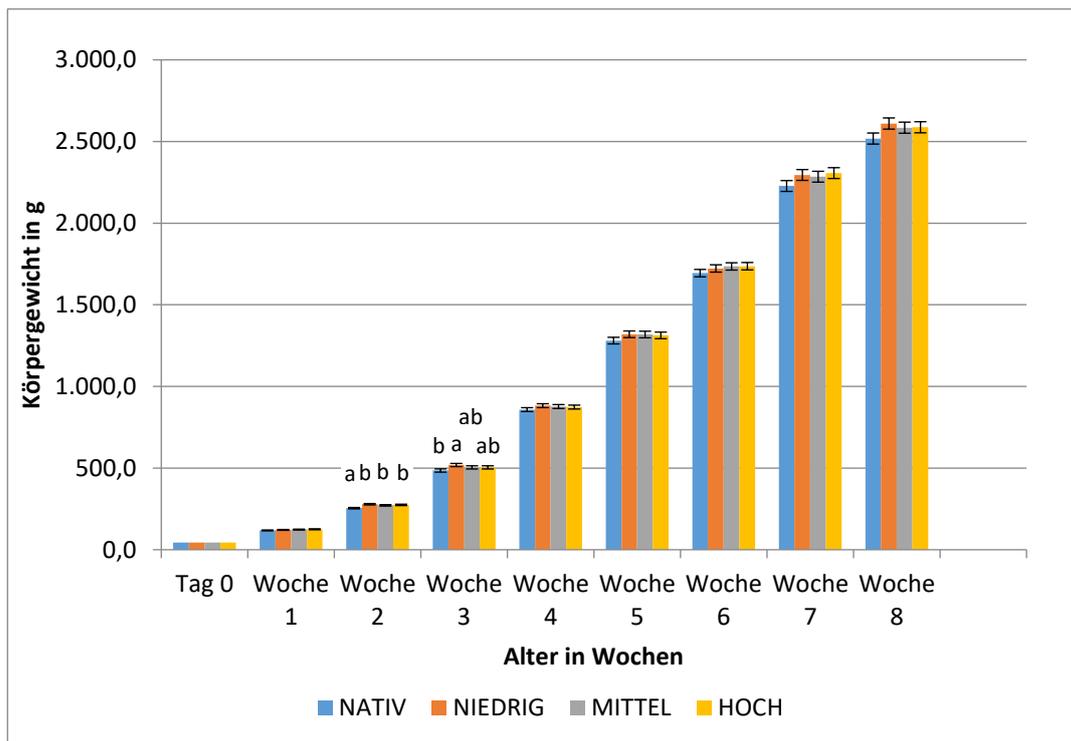


Abbildung 13: Körpergewichte des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang I) (LS-Means \pm SE). Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.

Die täglichen Zunahmen unterschieden sich nur in der zweiten Lebenswoche zwischen den Versuchsgruppen (Abbildung 14). Hier waren die Zunahmen mit 22,7 g/d in der Gruppe NATIV geringer als in den drei anderen Gruppen, die zwischen 24,7 g/d und 26,2 g/d schwankten ($P < 0,05$). Die höchsten Zunahmen wurden in allen Gruppen in der 6. und 7. Lebenswoche verzeichnet.

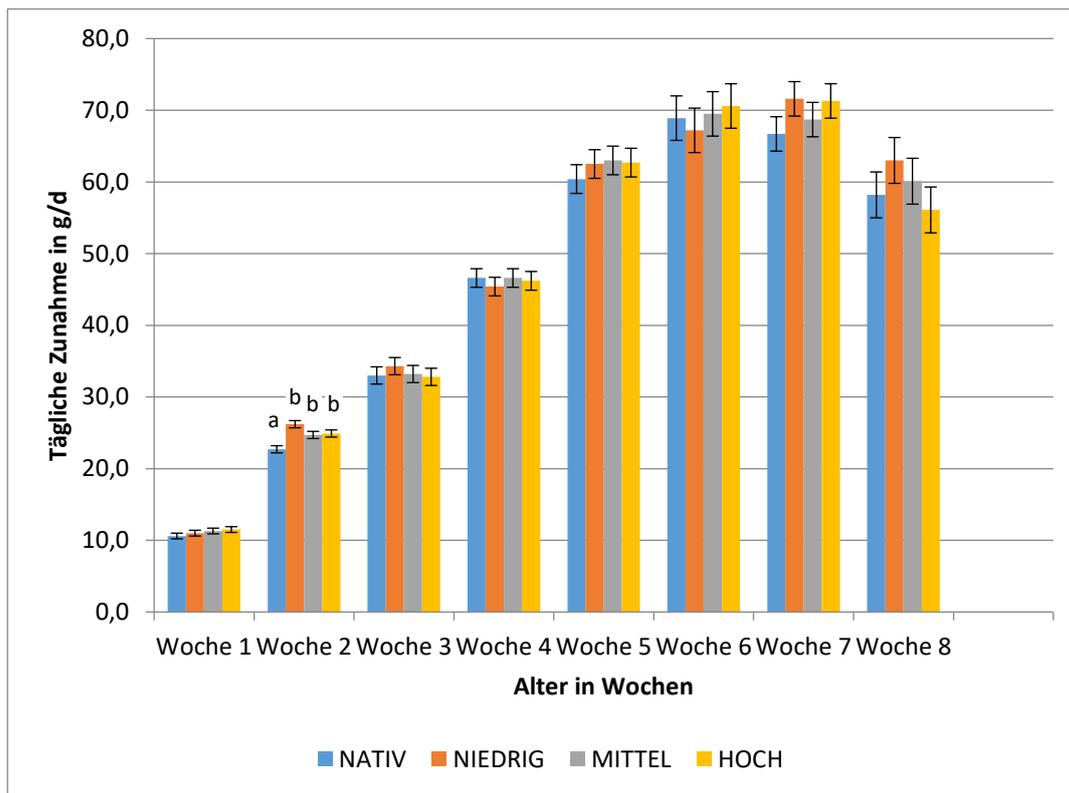


Abbildung 14: Tageszunahmen des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang I) (LS-Means \pm SE). Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.

Die Uniformität der erreichten Lebendgewichte war für die Fütterungsvariante NATIV mit 63,64 % am höchsten. Darauf folgten die Varianten NIEDRIG mit 53,25 %, HOCH 50,00 % und MITTEL mit 47,50 %.

Über den Versuchszeitraum lag der Futterverbrauch ohne Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen bei 5218 bis 5412 g je Tier ($P > 0,05$; Tabelle 31). Aufgeteilt nach Wochen wiesen die NATIV-Tiere im Vergleich zu den NIEDRIG-Tieren in der dritten und fünften Lebenswoche einen geringeren Futterverbrauch auf ($P < 0,05$; Abbildung 15). Die Futterverwertung hingegen unterschied sich zwischen den Gruppen NATIV und NIEDRIG (2,11) und der Gruppe HOCH (2,07) ($P < 0,05$; Tabelle 31). Die Mortalität über die gesamte Versuchsperiode hinweg lag in der Gruppe NATIV mit 4,5 % höher als in den Gruppen NIEDRIG und HOCH (2,5 %) bzw. MITTEL (1,5 %). Die Sterblichkeit in den ersten 7 Lebenstagen lag dabei in allen Gruppen unter einem Prozent.

Bei den ökonomischen Kennzahlen ergaben sich Unterschiede zwischen den Gruppen (Tabelle 31). Mit 211 Punkten wurde für die NATIV-Gruppe ein geringerer Europäischer Broiler Index berechnet als für die MITTEL- und HOCH-Tiere (226 Punkte). Der entsprechende Erlös nach Futterkosten lag bei den NATIV-Masthühnern (2,38 €/Tier) etwa 10 bis 15 Cent niedriger als bei den anderen Gruppen ($P < 0,05$).

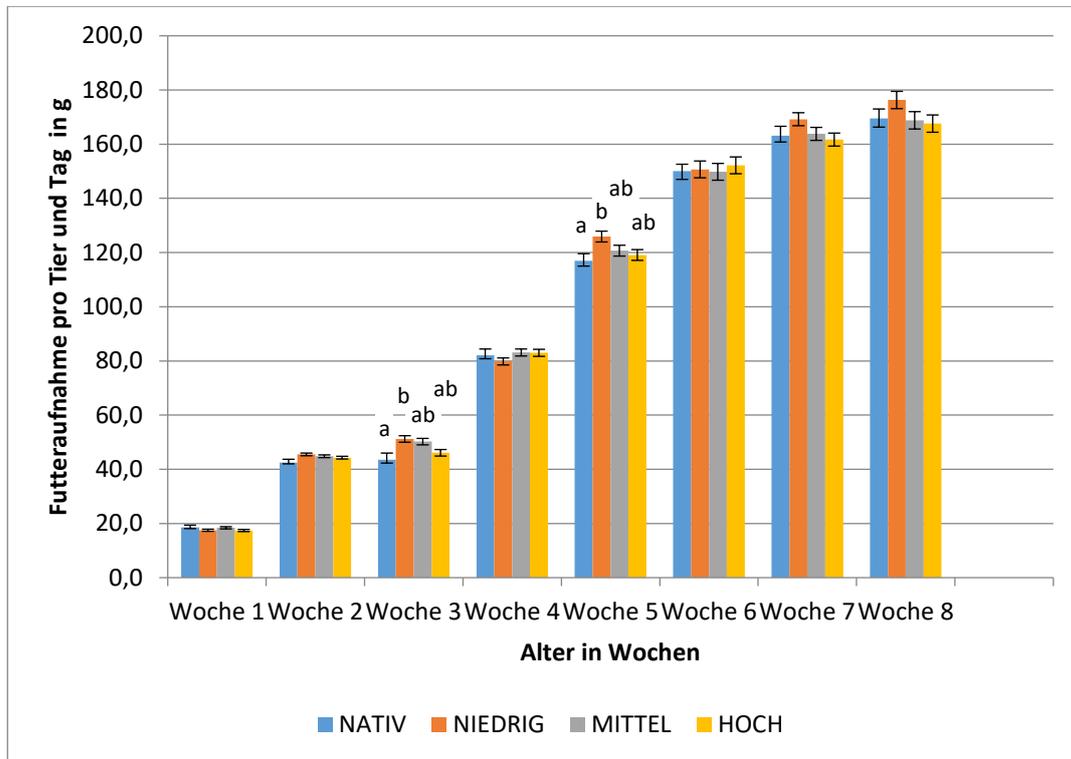


Abbildung 15: Futterverbrauch des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang I) (LS-Means ± SE). Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.

Tabelle 31: Leistungsparameter des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang I) (LS-Means)

Merkmal	Versuchsgruppe				SE
	NATIV*	NIEDRIG	MITTEL	HOCH	
Mastendgewicht (g)	2518,4	2610,1	2584,9	2587,2	34,0
Tageszunahme (g)	45,8	47,5	47,1	47,1	0,7
Futtermittelverbrauch (g/Tier)	5.218,9	5.412,2	5.311,1	5.252,6	77,1
Futtermittelverwertung (kg Futter/kg Zunahme)	2,11 ^b	2,11 ^b	2,09 ^{ab}	2,07 ^a	0,015
Wasserverbrauch (ml)	10.947 ^b	11.326 ^a	11.034 ^{ab}	11.005 ^{ab}	142
Wasser-Futter-Verhältnis (ml/g)	2,10	2,10	2,08	2,10	0,33
Mortalität (%)	4,50	2,50	1,50	2,50	1,18
Mortalität Tag 0 bis 7 (%)	0,0	0,50	0,50	0,50	0,36
Europäischer Broiler Index (Punkte)	211 ^b	224 ^{ab}	226 ^a	226 ^a	4
Erlös nach Futterkosten (€/Tier)	2,38 ^b	2,47 ^a	2,48 ^a	2,53 ^a	0,04

* Der Riboflavingehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.

^{a,b} Unterschiedliche Buchstaben innerhalb der Zeilen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($P < 0,05$).

4.2.3.2 Schlachtparameter

Tiere der MITTEL- und NATIV-Gruppe zeigten eine höhere Ausschachtung als Tiere der NATIV-Gruppe (Tabelle 32). Brust- und Schenkelanteil unterschieden sich dagegen nicht zwischen den Gruppen ($P > 0,05$), während der Flügelanteil der NATIV-Tiere höher war als der der NIEDRIG- und HOCH-Gruppen ($P < 0,05$). Der Anteil des Abdominalfettes wiederum war in der NATIV-Gruppe niedriger als bei den NIEDRIG- und HOCH-Masthühnern ($P < 0,05$). Der Leber- ebenso wie der Herzanteil lag bei NATIV- und NIEDRIG-Tieren über denen der beiden anderen Gruppen ($P < 0,05$). Der Anteil des Muskelmagens war bei den NATIV-Tiere höher als bei NIEDRIG- und bei diesen wiederum niedriger als bei den MITTEL-Tieren ($P < 0,05$).

Tabelle 32: Schlachtparameter des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang I) (LS Means)

Merkmal	Versuchsgruppe				SE
	NATIV*	NIEDRIG	MITTEL	HOCH	
Mastendgewicht (g)	2552	2611	2569	2566	35
Schlachtgewicht (g)	1881	1937	1928	1925	29
Ausschlachtung (%)	73,72 ^b	74,22 ^{ab}	74,95 ^a	74,95 ^a	0,3
Brust (% des SG)	25,44	25,45	25,80	25,67	0,27
Schenkel (% des SG)	30,12	30,33	30,35	30,21	0,24
Flügel (% des SG)	11,18 ^a	10,82 ^b	11,01 ^{ab}	10,89 ^b	0,09
Abdominalfett (% des SG)	1,50 ^c	1,77 ^a	1,53 ^{bc}	1,75 ^{ab}	0,08
Leber (% des SG)	2,93 ^a	2,91 ^a	2,70 ^b	2,59 ^b	0,05
Herz (% des SG)	0,54 ^a	0,57 ^a	0,47 ^b	0,48 ^b	0,01
Muskelmagen (% des SG)	1,45 ^a	1,34 ^b	1,19 ^c	1,26 ^{bc}	0,04

* Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.

SG = Schlachtgewicht.

^{a,b,c} Unterschiedliche Buchstaben innerhalb der Zeilen zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (P<0,05).

Wie in Abbildung 16 ersichtlich, war der Anteil des Leberscores 2 in der Gruppe NIEDRIG am höchsten und der Anteil unauffälliger Lebern (Score 0) am niedrigsten.

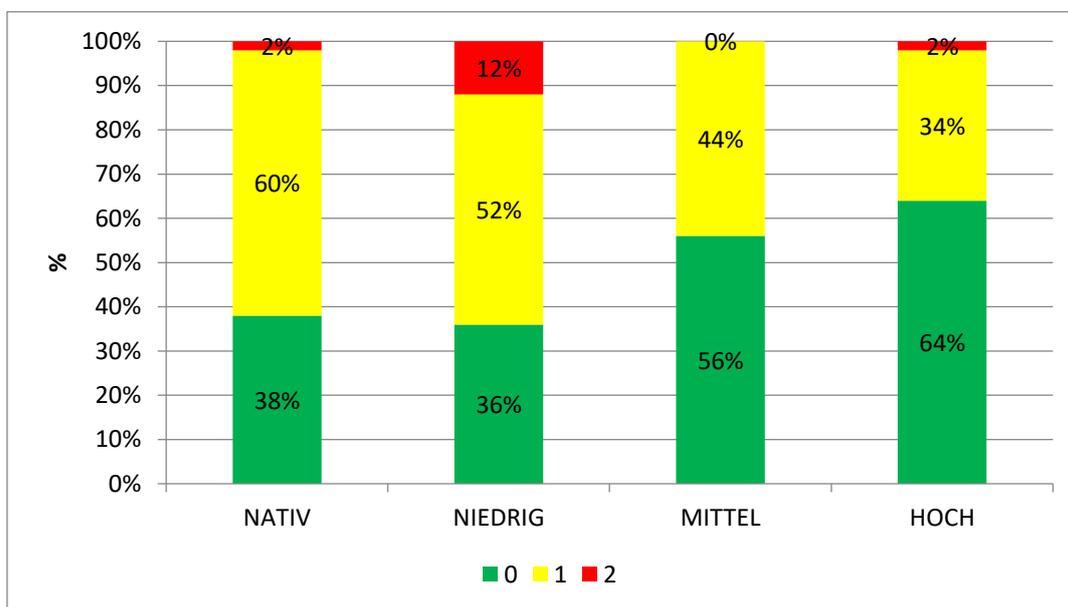


Abbildung 16: Leberscore des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2). Der Riboflavingehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.

4.2.3.3 Gesundheits- und Tierwohlindikatoren

In Bezug auf die Gefiederverschmutzung ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen, wobei stark verschmutzte Tiere nicht beobachtet wurden ($P > 0,05$; Tabelle 33). Ebenfalls ergaben sich für Fußballendermatitis keine Gruppenunterschiede ($P > 0,05$), wobei lediglich in einer Gruppe überhaupt Veränderungen der Fußballen zeigten. Hock Burns wurden in keiner Gruppe nachgewiesen.

Tabelle 33: Chi-Quadrat-Test der Gefiederverschmutzung und Fußballendermatitis am Ende der Mastperiode des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang I)

Merkmal / Score	Versuchsgruppe			
	NATIV*	NIEDRIG	MITTEL	HOCH
Gefiederverschmutzung¹	n=50	n=50	n=50	n=50
0	8	6	6	9
1	25	23	24	28
2	17	21	20	13
3	0	0	0	0
$\chi^2 = 3,67; P > 0,05$				
Fußballendermatitis²	n=50	n=50	n=50	n=50
0	48	50	50	50
1	2	0	0	0
2	0	0	0	0
$\chi^2 = 6,06; P > 0,05$				

* Der Riboflavingehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht.

¹ Score 0 = sauber bis Score 3 = hochgradig verschmutzt.

² Score 0 = unverändert bis Score 2 = starke Fußballendermatitis.

4.2.4 Versuch 2 – Durchgang 2: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

4.2.4.1 Leistungsparameter

Die Mortalität entlang des gesamten Mastverlaufs der jeweiligen Gruppen lag bei 0,5 % (A-NIEDRIG, B-NIEDRIG) bzw. 1,5 % (C-HOCH, D-HOCH). Bis zum 7. Tag waren Sterblichkeiten 0,0 % für die Gruppen A-NIEDRIG und B-NIEDRIG, 1,0 % bei C-HOCH und 0,5 % für die Gruppe D-HOCH.

Die Lebendgewichte der jeweiligen Woche sind in Abbildung 17 dargestellt. Im gesamten Mastverlauf zeigten sich innerhalb der einzelnen Wochen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Lebendgewichten der Tiere der verschiedenen Futtermittelnvarianten ($P > 0,05$). Mit Ausnahme von Woche 2 verzeichneten die Masthähnchen der D-HOCH Variante konstant

das höchste Lebendgewicht, jedoch nicht mit einem signifikanten Unterschied. Nach Woche 1 wogen die Tiere im Durchschnitt 95,3 g. Die A-NIEDRIG Tiere zeigten ein Einzeltierlebendgewicht von 94,7 g, die B-NIEDRIG Tiere eines von 93,7 g und die C-HOCH Tiere wogen 90,8 g. Bis einschließlich der 5. Woche erbrachten die C-HOCH Masthähnchen das geringste Lebendgewicht mit 1126,9 g ($P > 0,05$). Bis zu dieser Woche lag das Lebendgewicht der B-NIEDRIG Tiere bei 1130,0 g, die A-NIEDRIG Tiere verfügten über ein Lebendgewicht von 1140,3 g und die D-HOCH Tiere über 1146,8 g. Das Lebendgewicht der D-HOCH Gruppe lag nach der letzten Mastwoche im Durchschnitt bei 2426,6 g. Darauf folgten die Tiere der Varianten C-HOCH, A-NIEDRIG und B-NIEDRIG mit durchschnittlichen Lebendgewichten von 2358,2 g, 2341,2 g und 2316,4 g.

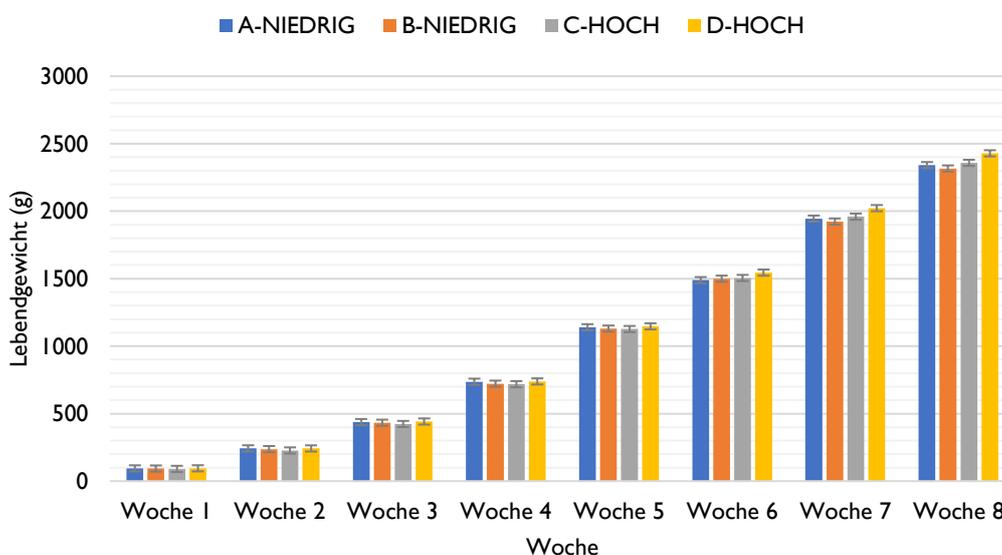


Abbildung 17: Lebendgewicht in der jeweiligen Mastwoche des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means \pm SE)

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen innerhalb der jeweiligen Wochen bei $P < 0,05$.

Innerhalb der einzelnen Wochen unterschieden sich die Tageszunahmen zwischen den Futtermitteln nicht signifikant voneinander ($P > 0,05$), dies ist in Abbildung 18 zu erkennen. Nach der ersten Woche ergab sich bei den Tageszunahmen ein vergleichbares Bild zu den gemessenen Lebendgewichten. Die Tiere der D-HOCH Gruppe zeigten in der ersten Mastwoche die stärksten Zunahmen. Mit 9,27 g/d waren sie den Gruppen A-NIEDRIG (9,16 g/d), B-NIEDRIG (9,01 g/d) und C-HOCH (8,52 g/d) bezüglich der Tageszunahmen je Tier überlegen ($P > 0,05$). In der 8. Woche lagen die Tageszunahmen je Tier bei 81,19 g/d (D-HOCH), 79,68 g/d (C-HOCH), 79,28 g/d (A-NIEDRIG) und 78,58 g/d (B-NIEDRIG) ($P > 0,05$). Zwischen Woche 2 und 5 wiesen teilweise andere Gruppen höhere Tageszunahmen auf. Im Vergleich war auch eine steigende Tageszunahme der Gruppe C-HOCH zu erkennen. Noch mit den geringsten Tageszunahmen in Woche 1 bis 3 überstiegen

sie in Woche 4 die Tiere der Gruppe B-NIEDRIG und verzeichneten in Woche 5 die höchsten Tageszunahmen. Jedoch kam es zu keinem Zeitpunkt zu statistisch signifikanten Unterschieden ($P > 0,05$).

Die durchschnittlichen Tageszunahmen über die gesamte Mastdauer der Gruppen unterschieden sich nicht signifikant ($P > 0,05$), zu sehen in der Gesamtübersicht der Mastdaten in Tabelle 34. Die Tageszunahme über alle Masttage betrug je Tier für Gruppe A-NIEDRIG 42,62 g/d, für B-NIEDRIG 42,16 g/d, C-HOCH 42,93 g/d und für D-HOCH 44,24 g/d.

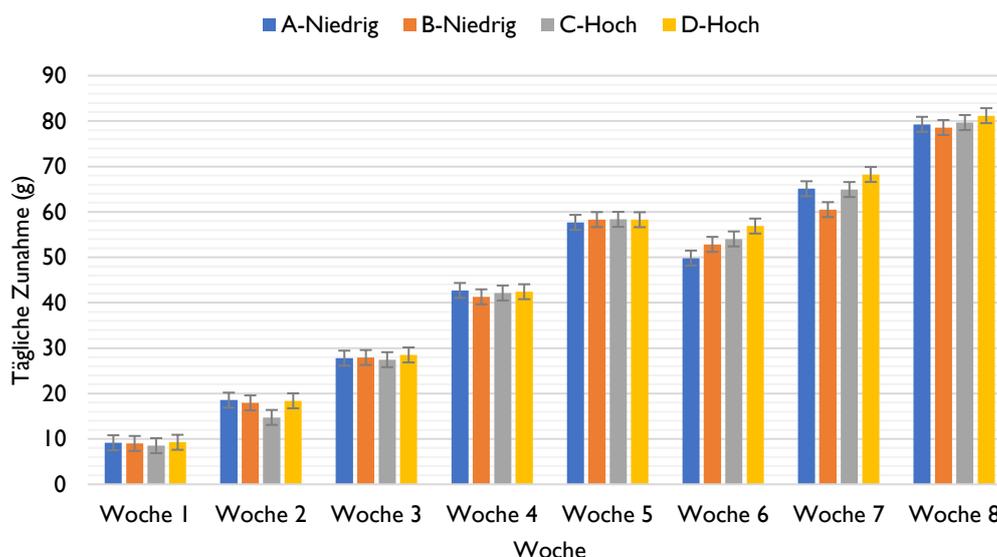


Abbildung 18: Tageszunahmen in der jeweiligen Mastwoche des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means \pm SE)

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen innerhalb der jeweiligen Wochen bei $P < 0,05$).

Wie Abbildung 18 zeigt, kam es von Woche 5 auf Woche 6 zu Einbrüchen in den Tageszunahmen. Dieser Rückgang zeigte sich am ausgeprägtesten bei den A-NIEDRIG Tieren, gefolgt von den B-NIEDRIG, C-HOCH und D-HOCH Tieren ($P > 0,05$). Letztere konnten die Tageszunahmen der Vorwoche halten. In der 7. Woche verzeichneten die A-NIEDRIG Masthähnchen eine hohe Steigerung der Tageszunahmen ($P < 0,05$) und schlossen zu den Tieren der Gruppe C-HOCH und D-HOCH auf.

Die Uniformität der erreichten Lebendgewichte war für die Fütterungsvariante D-HOCH mit 51,90 % am niedrigsten. Darauf folgten die Varianten B-NIEDRIG mit 54,43 %, C-HOCH mit 55,13 % und A-NIEDRIG mit 57,50 %.

Der Futterverbrauch zeigte, mit Ausnahme von Woche 4 ($P < 0,05$), keine signifikanten Unterschiede in allen Mastwochen zwischen den Gruppen ($P > 0,05$). Generell war in allen

Gruppen ein ähnlicher Futterverbrauch zu beobachten. B-NIEDRIG Tiere verbrauchten in den meisten Wochen am wenigsten Futter ($P > 0,05$). D-HOCH Tiere zeigten im Vergleich häufig einen höheren Futterverbrauch ($P > 0,05$). In Woche 1 lag der Futterverbrauch pro Tier und Tag der D-HOCH Tiere bei 13,34 g, der A-NIEDRIG Tiere bei 13,00 g, der B-NIEDRIG Tiere bei 12,60 g und der C-HOCH Tiere bei 13,36 g ($P > 0,05$). In der letzten Mastwoche nahmen die Tiere jeweils 211,6 g (B-NIEDRIG), 204,5 g (C-HOCH), 201,2 g (A-NIEDRIG) und 196,1 g (D-HOCH) Futter pro Tag auf ($P > 0,05$). In Woche 4 unterschieden sich Tiere der Gruppe C-HOCH hinsichtlich des Futterverbrauchs signifikant von allen anderen Tieren ($P < 0,05$). Die Tiere verbrauchten am Tag eine Futtermenge von 107,0 g/Tier (C-HOCH). Die Tiere der anderen Gruppen verbrauchten pro Tier und Tag 84,2 g (D-HOCH), 83,5 g (A-NIEDRIG) und 71,5 g (B-NIEDRIG). Während der Futterverbrauch aller anderen Gruppen in Woche 5 stieg, sank die Futtermenge der C-HOCH Gruppe. Unter anderem war in der 4. Woche eine Futterverschwendung in einigen Abteilen zu beobachten. Auch in anderen Wochen kam es zu Futterverschwendungen. Signifikante Unterschiede waren allerdings nicht festzustellen. Der Verlauf des Futterverbrauchs der Gruppen in den einzelnen Mastwochen ist in Abbildung 19 dargestellt.

Die aufgewendete Futtermenge über die gesamte Mastdauer ist in Tabelle 34 abzulesen. Auch diese Werte zeigten keine signifikanten Unterschiede ($P > 0,05$). Die Futterverwertung hingegen war bei D-HOCH niedriger (1,99 kg/kg) als in den anderen Gruppen ($P < 0,05$).

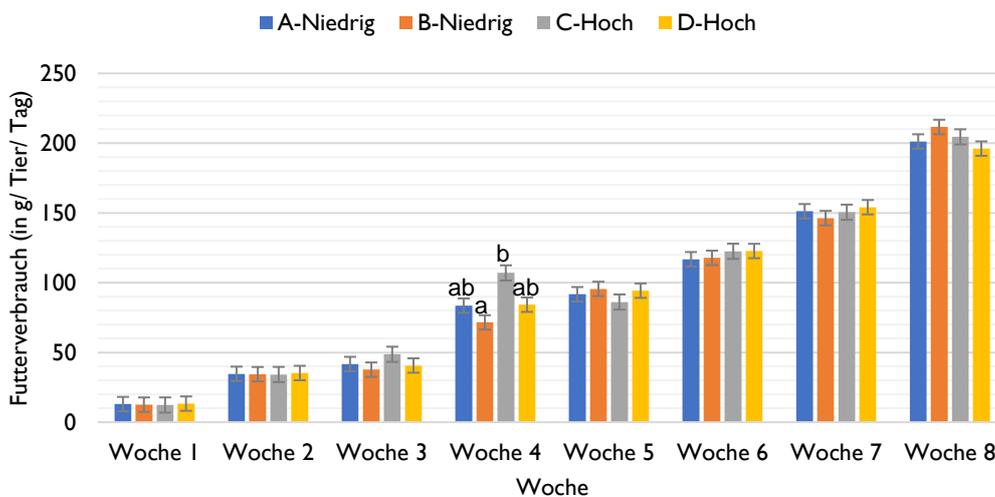


Abbildung 19: Futterverbrauch je Tier und Tag in der jeweiligen Mastwoche des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means \pm SE). Unterschiedliche Kennzeichnungen (a, b, c) zeigen signifikante Unterschiede in der jeweiligen Woche bei $P < 0,05$)

Beim Wasserverbrauch pro Tier und Tag in den Mastwochen kam es zu keinen signifikanten Unterschieden zwischen den Fütterungsvarianten ($P > 0,05$; Tabelle 34). Über den gesamten Mastverlauf war, wie beim Wasserverbrauch, ein kontinuierlicher Anstieg zu verzeichnen. In der 1. Woche nahmen die Tiere 32,67 ml (B-NIEDRIG), 31,11 ml (D-HOCH), 27,81 ml (C-HOCH) und 26,67 ml (A-NIEDRIG) pro Tier und Tag auf ($P > 0,05$). In der 8. Woche erreichte der Wasserverbrauch Werte von 427,10 ml (B-NIEDRIG), 414,00 ml (C-HOCH), 412,00 ml (A-NIEDRIG) und 407,20 ml (D-HOCH) pro Tier und Tag ($P > 0,05$).

Das Wasser-Futter-Verhältnis über die gesamte Mast der Masthühner zeigte keine signifikanten Unterschiede ($P > 0,05$) (Tabelle 34).

Die ökonomischen Kennzahlen wiesen signifikante Unterschiede auf ($P < 0,05$; Tabelle 34). So unterschied sich die D-HOCH Futtergruppe (223 Punkte) signifikant von B-NIEDRIG (207 Punkte) und C-HOCH (211 Punkte) hinsichtlich des EBI ($P < 0,05$). Beim Erlös nach Futterkosten war D-HOCH allen anderen Gruppen überlegen ($P < 0,05$).

Tabelle 34: Leistungsdaten des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means)

Parameter	Fütterungsvariante				SE
	A-NIEDRIG	B-NIEDRIG	C-HOCH	D-HOCH	
Mastendgewicht (g)	2341,2	2316,4	2358,2	2428,6	37,3
Tageszunahme (g)	42,62	42,16	42,93	44,24	0,7
Futtermittelverbrauch (g/Tier)	4692,3	4690,8	4743,2	4755,9	82,6
Futtermittelverwertung (kg Futter/kg Zunahme)	2,04 ^b	2,06 ^b	2,04 ^b	1,99 ^a	0,02
Wasserverbrauch (ml)	10911	10853	10700	10570	136
Wasser-Futter-Verhältnis (ml/g)	2,33	2,32	2,27	2,23	0,03
EBI (Punkten)	212 ^{ab}	207 ^b	211 ^b	223 ^a	4
Erlös nach Futterkosten (€/Tier)	2,47 ^b	2,41 ^b	2,49 ^b	2,65 ^a	0,05

^{a, b, c} Unterschiedliche Kennzeichnungen zeigen signifikante Unterschiede in der Zeile bei $P < 0,05$.

4.2.4.2 Schlachtparameter

Die Lebendgewichte der Schlachtdaten und die Lebendgewichte der Leistungsdaten sind trotz Messung am selben Tag nicht identisch. Ursache ist die zufällige Auswahl von je fünf Tieren pro Abteil, die zur Ermittlung der Schlachtdaten herangezogen wurden.

Wie schon bei den Mastdaten, bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Fütterungsvarianten hinsichtlich des Lebendgewichts der Schlachtdaten am Ende der Mast ($P > 0,05$). Wie in Tabelle 35 zu erkennen, waren Tiere der D-HOCH Gruppe am schwersten ($P > 0,05$). Unter Einbezug aller Fütterungsvarianten ergab sich ein Mittelwert von 2378,5 g/Tier, bei einer Gewichtsspanne von 1602,0 g/Tier bis 3430,0 g/Tier.

Tiere der Gruppen C-HOCH (1685,5 g) und D-HOCH (1809,0 g) zeigten signifikante Unterschiede des Schlachtgewichts ($P < 0,05$). Die übrigen Gruppen A-NIEDRIG (1714,6 g) und B-NIEDRIG (1712,5 g) unterschieden sich jeweils nicht signifikant ($P > 0,05$). Die Schlachtgewichte sind in Tabelle 35 dargestellt.

Mit einer Ausschachtung von 73,89 % verfügte die D-HOCH Gruppe über den höchsten Wert, der sich von allen anderen Gruppen signifikant unterschied ($P < 0,05$). Die anderen Gruppen zeigten durchschnittlich niedrigere Ausschachtungswerte von 72,69 % (B-NIEDRIG), 72,52 % (C-HOCH) und 71,88 % (A-NIEDRIG) ($P > 0,05$). Die Spanne der Ausschachtung aller zur Messung verwendeten Tiere erstreckte sich von 63,07 % bis

77,38 %. In Tabelle 35 sind die Werte der Ausschachtung zum Vergleich noch einmal dargestellt.

Der prozentuale Brustfleischanteil (ohne Haut) des Schlachtgewichts unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen ($P > 0,05$). Mit 25,00 % war der Brustfleischanteil in der D-HOCH Gruppe am größten, mit 24,38 % bei den C-HOCH Tieren am geringsten ($P > 0,05$). Die Gewichtsspanne des Brustfleisch ohne Haut begann bei 234,0 g und endete bei 682,0 g. Die Anteile der Ausschachtung der verschiedenen Gruppen sind in einer Gesamtübersicht in Tabelle 35 zu finden.

Das durchschnittliche Schenkelgewicht unter Einbezug aller Gruppen lag bei 542,1 g. Bei einer Gewichtsspanne von 360,0 g bis 750,0 g. Im Verhältnis zum Schlachtgewicht kam es folglich zu einer Ausschachtung von 31,48 % (C-HOCH) bis 31,12 % (D-HOCH) ($P > 0,05$). Die Schenkelanteile zeigten keine signifikanten Unterschiede ($P > 0,05$).

Ebenso war bei den Flügelanteilen kein signifikanter Unterschied festzustellen ($P > 0,05$). Die Anteile des Schlachtgewichts betragen 11,41 % (C-HOCH), 11,32 % (A-NIEDRIG), 11,29 % (B-NIEDRIG) und 11,21 % (D-HOCH) ($P > 0,05$).

Signifikante Unterschiede zeigten sich zwischen Gruppe A-NIEDRIG und D-HOCH im Anteil der Karkasse, bezogen auf das Schlachtgewicht ($P < 0,05$). Die Werte betragen 27,39 % (A-NIEDRIG) und 26,80 % (D-HOCH). Keine signifikanten Unterschiede bestanden zwischen den verbleibenden Gruppen B-NIEDRIG und C-HOCH. Das geringste gemessene Karkassengewicht lag bei 320,0 g, das höchste bei 636,0 g. Der Mittelwert des Karkassengewichts aller 200 geschlachteten Tiere lag bei 469,6 g.

Beim Abdominalfett zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, alle Gruppen befanden sich in einer Spanne von 1,49 % (D-HOCH) bis 1,30 % (A-NIEDRIG) ($P > 0,05$). Im Mittel verfügten alle Tiere über 24,4 g Abdominalfett.

Festzustellen waren signifikante Unterschiede bei den Anteilen der Leber ($P < 0,05$). Mit 3,23 %, 3,10 % und 3,01 % waren die Gruppen A-NIEDRIG, C-HOCH und B-NIEDRIG nicht signifikant voneinander zu unterscheiden ($P > 0,05$). Tiere der Gruppe D-HOCH zeigten mit 2,82 % signifikante Unterschiede zu den vorhergehenden Futtergruppen ($P < 0,05$). Innerhalb der 200 geschlachteten Tiere zeigte sich eine Spanne der Lebergewichte von 26,0 g bis 78,0 g. Bezüglich der Leberfarbe waren keine statistischen Unterschiede festzustellen ($P > 0,05$). Die Leberscores der einzelnen Futtervarianten sind in Abbildung 20 dargestellt.

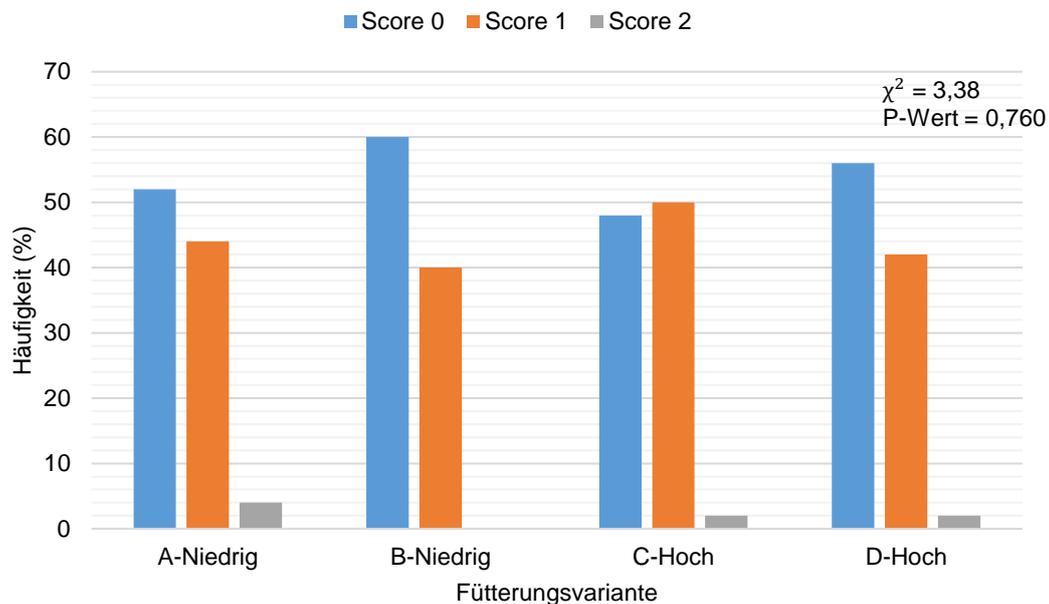


Abbildung 20: Prozentuale Häufigkeit der Leberscores des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)

Signifikante Unterschiede lagen auch bei den prozentualen Herzanteilen des Schlachtgewichts vor ($P < 0,05$). Zwischen den Tieren der Gruppe A-NIEDRIG (0,50 %) und D-HOCH (0,46 %) bestand ein signifikanter Unterschied ($P < 0,05$). Die Gruppen B-NIEDRIG und C-HOCH zeigten gleiche Herzanteile von 0,48 %. Sie waren nicht signifikant von den Gruppen B-NIEDRIG und D-HOCH zu unterscheiden ($P > 0,05$).

Auch bei den Muskelmagenanteilen des Schlachtkörpers lagen signifikante Unterschiede vor ($P < 0,05$). Diese bestanden zwischen den Gruppen B-NIEDRIG und D-HOCH ($P < 0,05$). Die Werte dieser beiden Gruppen lagen bei 1,42 % und 1,24 %. Zwischen den Tieren der Gruppe A-NIEDRIG (1,34 %) und C-HOCH (1,38 %), wie auch zu den beiden Gruppen B-NIEDRIG und D-HOCH bestand kein signifikanter Unterschied ($P > 0,05$).

Tabelle 35: Schlachtdaten des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2) (LS-Means)

Parameter	Variante				SE
	A-NIEDRIG	B-NIEDRIG	C-HOCH	D-HOCH	
Lebendgewicht an Tag 54 (g)	2385,30	2355,30	2324,00	2449,30	33,74
Schlachtgewicht (SG, g)	1714,60 ^{ab}	1712,50 ^{ab}	1685,50 ^a	1809,00 ^b	26,98
Ausschlachtung (%)	71,88 ^a	72,69 ^a	72,52 ^a	73,89 ^b	0,27
Brust (% des SG)	24,44	24,46	24,38	25,00	0,23
Schenkel (% des SG)	31,33	31,37	31,48	31,12	0,18
Flügel (% des SG)	11,32	11,29	11,41	11,21	0,07
Karkasse (% des SG)	27,39 ^a	27,34 ^{ab}	27,12 ^{ab}	26,80 ^b	0,15
Abdominalfett (% des SG)	1,30	1,45	1,37	1,49	0,07
Leber (% des SG)	3,23 ^a	3,06 ^a	3,10 ^a	2,82 ^b	0,07
Herz (% des SG)	0,50 ^a	0,48 ^{ab}	0,48 ^{ab}	0,46 ^b	0,01
Muskelmagen (% des SG)	1,34 ^{ab}	1,42 ^a	1,38 ^{ab}	1,24 ^b	0,04

^{a, b, c} Unterschiedliche Kennzeichnungen zeigen signifikante Unterschiede in der Zeile bei $P < 0,05$.

4.2.4.3 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren

Die bei der Schlachtung durchgeführte Bonitur der Ständer hinsichtlich der Fußballengesundheit und den Sprunggelenksentzündungen ergab keine signifikanten Unterschiede ($P > 0,05$). Hock Burns wurden nicht nachgewiesen, Fußballendermatitis zeigten sechs Tiere. Die Fußballengesundheit ist in Abbildung 21 anhand der Beurteilungsscores 0 und 1 dargestellt. Score 2 wurde nicht beobachtet. Ein geschlechtsspezifischer Unterschied der Ständergesundheit war ebenso nicht festzuhalten ($P > 0,05$).

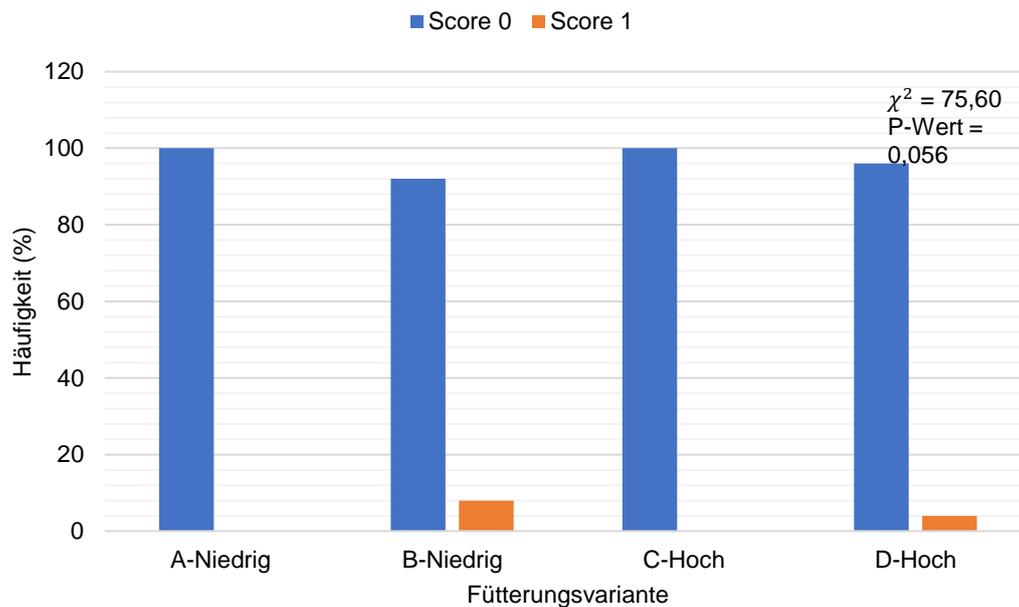


Abbildung 21: Prozentuale Häufigkeit des Auftretens von Fußballendermatitis des Fütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt (Durchgang 2)

Unterschiedliche Kennzeichnungen (a, b, c) zeigen signifikante Unterschiede in der jeweiligen Woche bei $P < 0,05$.

Für die während der Mast durchgeführte Gefiederbonitur ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede ($P > 0,05$). Dies galt sowohl für die Fütterungsvarianten, als auch für die einzelnen Abteile. Über die Zeit zeigte sich ein Anstieg der Gefiederverschmutzung der Tiere. Nur die Tiere der C-HOCH Gruppe zeigten in der letzten Woche einen Verschmutzungsscore von 1 unter 10 % ($P > 0,05$). Wegen des geringen Auftretens des Score 2 wurde dieser mit Verschmutzungsscore 1 zusammengefasst.

Die Bonitur der Fußballen während der Mast führte zu keinen Unterschieden in den Gruppen ($P < 0,05$). An allen vier Boniturzeitpunkten kam es kein Mal zur Verwendung des Fußballenscores 1 oder höher.

4.2.5 Versuch 3: Praxisfütterungsversuch in der Aufzucht von Masthähnchen mit dem Fermentations-Trockenprodukt

4.2.5.1 Leistungsparameter

Dieser Versuch wurde eine Woche später als der erste Durchgang des Versuches 2, bei dem Mangelsymptome festgestellt wurden. Da in diesem Praxisversuch dieselben Futtermittel verwendet wurden, wurde auch hier das NATIV-Futter (Riboflavin-Gehalt von 2,86 mg/kg im Starterfutter) in der zweiten Lebenswoche auf einen Riboflavin-Gehalt von 5,88 mg/kg

erhöht (Mischung aus den vier Versuchsgruppen). Nach 14 Tagen wiesen 2 Tiere der NATIV-Gruppe Lähmungserscheinungen ('curled toe paralysis') auf.

In der zweiten Lebenswoche wiesen Tiere der HOCH-Gruppe im Vergleich zu den MITTEL-Tieren geringere Lebendgewichte auf ($P < 0,05$). Nach der Aufwertung des Riboflavin-Gehaltes der NATIV-Gruppe zeigten diese Tiere in der fünften Lebenswoche ein zu den MITTEL-Tieren vergleichbares Gewicht auf, während beide andere Gruppen niedriger lagen ($P < 0,05$). Am Ende des Versuches nach 8 Wochen gab es keine Unterschiede zwischen den vier Versuchsgruppen mehr ($P > 0,05$) (Tabelle 36).

Tabelle 36: Lebendgewichte des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

Woche	Versuchsgruppe			
	NATIV*	NIEDRIG	MITTEL	HOCH
2	284 ^{ab}	284 ^{ab}	297 ^a	278 ^b
5	1279 ^a	1221 ^b	1273 ^a	1187 ^b
6		1598 ^a	1630 ^a	1513 ^b
7	2125 ^a	2063 ^{ab}	2099 ^a	1987 ^b
8	2324	2309	2406	2308

*Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht

Die Futtermittelverwertung war mit 2,16 bzw. 2,12 kg Futter je kg Gewichtszuwachs in den Gruppen NATIV und NIEDRIG schlechter als in den Gruppen MITTEL (1,90) und HOCH (1,94) (Abbildung 22).

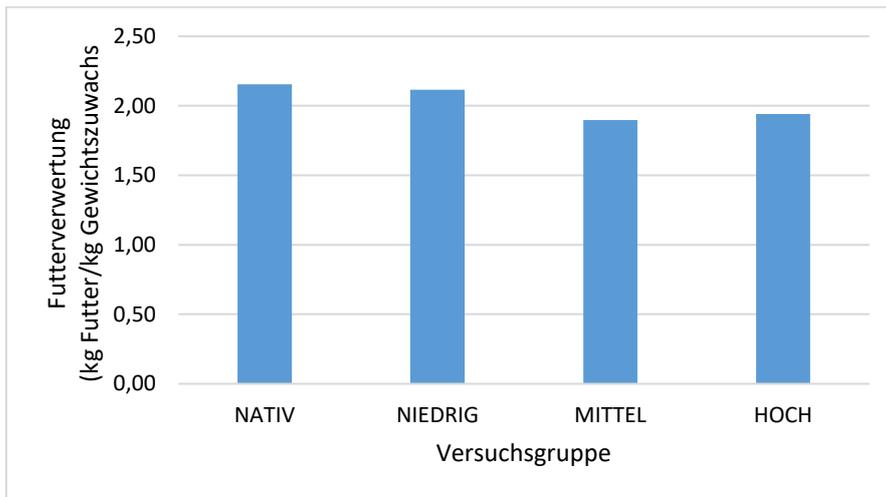


Abbildung 22: Futterverwertung des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

4.2.5.2 Schlachtparameter

Während sich bei den männlichen Tieren am Ende der Mast Unterschiede ergaben, zeigten die weiblichen Tiere keine Unterschiede. Die männlichen MITTEL-Tiere hatten das höchste Lebendgewicht, die HOCH-Tiere die niedrigsten ($P < 0,05$). Die galt ebenso für die Schlachtgewichte. Die Schlachtgewichte der weiblichen Tiere waren in den MITTEL- und HOCH-Gruppen höher als in den beiden anderen Gruppen ($P < 0,05$). Mit Blick auf die Ausschachtung gab es bei beiden Geschlechtern keine Unterschiede zwischen den Gruppen ($P > 0,05$) (Tabelle 37).

Tabelle 37: Schlachtparameter des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

		Versuchsgruppe			
	Geschlecht	NATIV	NIEDRIG	MITTEL	HOCH
Lebendgewicht (g)	m	2563 ^{ab}	2530 ^{ab}	2642 ^a	2421 ^b
	w	2084	2088	2169	2195
Schlachtgewicht (g)	m	1941 ^{ab}	1930 ^{ab}	1970 ^a	1832 ^b
	w	1517 ^a	1540 ^a	1611 ^b	1603 ^b
Ausschlachtung (%)	m	75,73	76,28	74,56	75,67
	w	72,80	73,75	74,27	73,03

*Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht

4.2.5.3 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren

Ein stark verschmutztes Gefieder wurde bei 12 % und ein mittelgradig verschmutztes Gefieder bei 64 % der Tiere der NATIV-Gruppe gefunden Abbildung 23. In den anderen Gruppen war der Anteil verschmutzter Tiere niedriger.

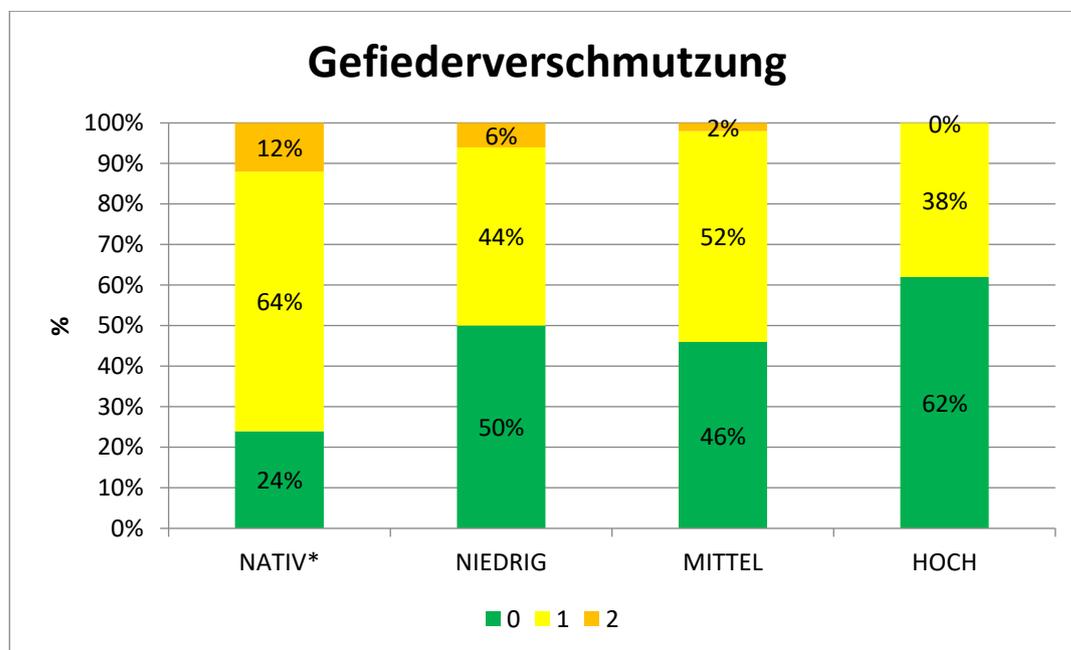


Abbildung 23: Gefiederverschmutzung des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

* Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht; ¹ Score 0 = sauber bis Score 3 = hochgradig verschmutzt.

In der NATIV-Gruppe wurde bei 10 % der Tiere eine starke Fußballendermatitis festgestellt, bei den anderen Gruppen lag dieser Anteil bei maximal 2 % (Abbildung 24).

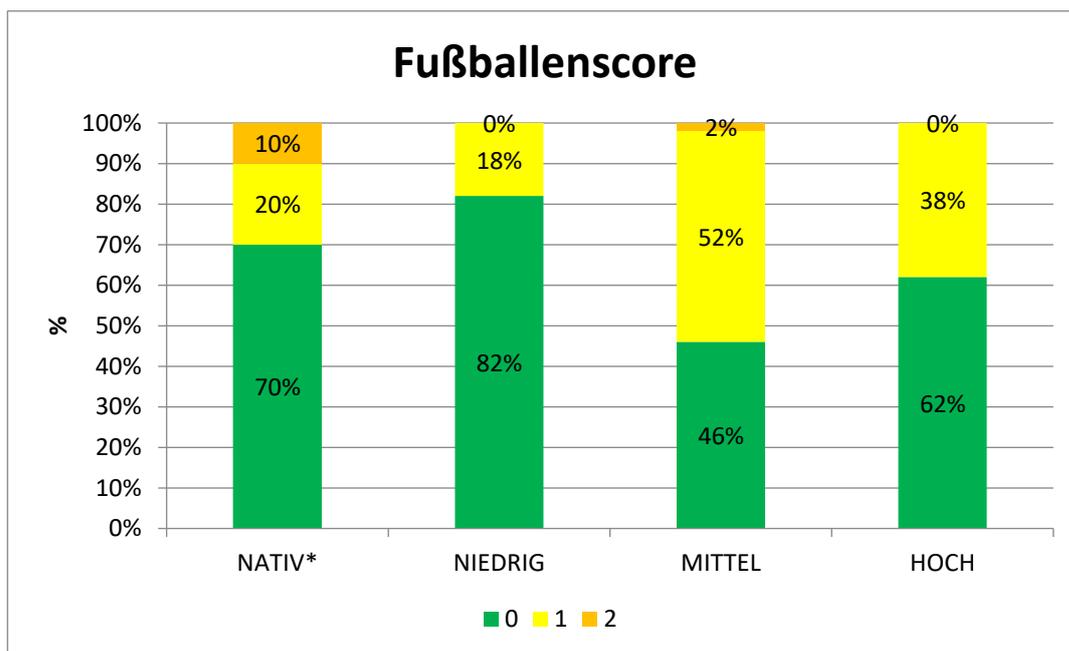


Abbildung 24: Fußballenscore des Praxisfütterungsversuches von Masthühnern mit dem Fermentations-Trockenprodukt

* Der Riboflavin-Gehalt in der Gruppe NATIV wurde ab der zweiten Lebenswoche auf einen Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht; Score 0 = unverändert bis Score 2 = starke Fußballendermatitis.

4.2.6 Versuch 4: Fütterungsversuch mit Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension

Wie in Tabelle 38 dargestellt, variierte die Legeleistung in Abhängigkeit der Fütterungsvariante über die gesamte Versuchsperiode zwischen 72,6 % (A-NIEDRIG) und 75,9 % (NATIV), wobei zwischen den Fütterungsvarianten statistisch kein Unterschied abgesichert werden konnte ($P = 0,48$; Tabelle 38). Hierbei ist zu berücksichtigen, dass sich der hier betrachtete Versuchszeitraum auf die LW 27 bis 62 ausdehnte. Auch bezüglich des Eigewichtes gab es mit einem mittleren Gewicht von 58,5 g keinen Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen. Ein Unterschied zwischen den Varianten im Riboflavin-Gehalt im Ei konnte nicht abgesichert werden ($P = 0,59$). Hinsichtlich des Hennengewichtes wiesen die A-NIEDRIG-Tiere im Vergleich zu denen der Variante NATIV ein geringeres Lebendgewicht auf. Der Futterverbrauch schwankte zwischen 91 (A-HOCH) und 106 (KONV) g je Henne und Tag. Bezogen auf ein kg Eimasse schwankte der Futterverbrauch zwischen 2,41 kg/kg Eimasse bei NATIV-Tieren und 2,10 kg/kg Eimasse bei A-HOCH-Tieren.

Tabelle 38: Legeleistung, Körpergewicht, Riboflavin-Gehalt im Ei und Futterverbrauch des Fütterungsversuches von Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension

Parameter	Versuchsgruppe				SE	P-Wert	
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH		Versuchsmischung	Versuchsphase
Legeleistung (%)	75,3	75,9	72,6	74,7	1,65	0,48	0,001
Körpergewicht (g)	2070 ^{ab}	2092 ^a	1996 ^b	2029 ^{ab}	27,1	0,05	0,001
Futterverbrauch (g/Tier/Tag)	106	98	96	91	-	-	-
Futterverbrauch (kg Futter/kg Eimasse)	2,41	2,20	2,25	2,10	-	-	-

^{ab} Mittelwerte innerhalb einer Zeile mit unterschiedlichen hochgestellten Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander ($P < 0,05$).

Die Eigewichte und -zusammensetzung sind in Tabelle 39 dargestellt. Die A-HOCH-Gruppe zeigte höhere Eigewichte als die A-NIEDRIG, während beide andere Gruppe dazwischen lagen ($P < 0,05$). Der Schalenanteil war in der A-HOCH-Gruppe niedriger als in der KONV-Gruppe ($P < 0,05$); zu den beiden anderen Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede ($P > 0,05$). In Bezug auf die Eidotter- und Albumen-Anteile ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ($P > 0,05$). Ebenso zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Riboflavin-Gehalt in den Eiern ($P > 0,05$).

Tabelle 39: Eizusammensetzung und Riboflavin-Gehalt im Ei des Fütterungsversuches von Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension

Parameter	Versuchsgruppe				SE	P-Wert	
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH		Versuchsgruppe	Versuchsphase
Eigewicht (g)	58,35 ^{ab}	59,21 ^a	57,26 ^a	59,45 ^b	0,48	0,01	0,001
Schalenanteil (%)	11,35 ^{ab}	11,37 ^a	11,07 ^{ab}	10,97 ^b	0,10	0,03	0,001
Dotteranteil (%)	33,81	34,98	34,24	34,00	0,43	0,15	0,04
Albumenanteil (%)	54,90	54,02	54,41	54,39	0,52	0,66	0,02
Riboflavin-Gehalt im Ei (mg/100 g)	0,520	0,556	0,546	0,540	0,019	0,59	0,13

In allen drei Versuchsgruppen, für die die Befruchtungsrate in der ersten Versuchsphase erhoben werden konnte, lag sie über 90% (Tabelle 40). In der zweiten Versuchsphase zeigten sowohl die Gruppe NATIV als auch KONV bei einer Befruchtungsrate von 70%, während es in der Gruppe A-HOCH 80% und in der Gruppe A-NIEDRIG mehr als 95% waren. Die entsprechende Befruchtungsrate variierte zwischen 60% in NATIV und KONV und mehr als 90% in beiden Gruppen mit der Riboflavin-Supplementierung der alternativen Quelle. Die Befruchtungsrate in der dritten Versuchsphase lag zwischen 50% (NATIV) und mehr als 90% (KONV), während die Schlupfrate über 85% in allen Gruppen lag.

Tabelle 40: Zuchtleistung des Fütterungsversuches von Masthühner-Elterntieren mit der Fermentations-Suspension

Parameter	Versuchsgruppe			
	NATIV	KONV	A-NIEDRIG	A-HOCH
Versuchsphase 1				
Eier eingelegt (n)	243	239	246	245
Befruchtungsrate (%)	95,9	85,8	91,9	*
Schlupfrate (%)	95,7	90,7	97,8	-
Versuchsphase 2				
Eier eingelegt (n)	200	200	200	200
Befruchtungsrate (%)	70,5	71,0	96,0	80,5
Schlupfrate (%)	58,9	63,4	95,3	92,5
Versuchsphase 3				
Eier eingelegt (n)	200	199	199	199
Befruchtungsrate (%)	48,5	92,5	67,8	67,8
Schlupfrate (%)	85,6	96,2	97,8	92,6

* Befruchtungsrate unter 5%, daher keine Schlupfrate erhoben.

4.2.7 Versuch 5: Fütterungsversuch in der Aufzucht von Mastputen mit dem Fermentations-Trockenprodukt

4.2.7.1 Leistungsparameter

Die durchschnittliche Verlustrate über den gesamten Versuchszeitraum betrug 3,3 %. Dies entspricht einer guten Quote im Vergleich zur landwirtschaftlichen Praxis und bestätigt den relativ störungsfreien Verlauf des Versuches. Zwischen den verschiedenen Varianten waren keine besonderen Auffälligkeiten zu beobachten, lediglich die Gruppe der Riboflavin-Versorgungsstufe 6 zeigt gegenüber den Vergleichsgruppen statistisch gesichert höhere Verluste mit 10,4 % und ging mit der subjektiven Beobachtung einher, dass diese Tiere eine schlechtere Fitness aufwiesen. Die nachteilige Wirkung war jedoch nicht während der gesamten Aufzuchtphase in gleicher Intensität zu beobachten. Ein deutlich erkennbarer Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den Stufen der am wenigsten

versorgten Vitamin B₂-Gruppen bestand ab Mitte der zweiten Lebenswoche. Diese Beobachtungen lassen auf eine Unterversorgung mit Riboflavin schließen.

Aufgrund steigender Verluste und vermehrt Tieren mit neurologischen Ausfällen, bei denen dies ebenfalls drohte, wurden die Varianten 1.6 und 2.6 ab dem 16. Versuchstag über das Tränkwasser zusätzlich mit Riboflavin durch das Produkt EcoVit R versorgt, um eine weitere Riboflavin-Mangelsituation zu vermeiden.

Auf eine Darstellung der Ergebnisse für die Phase II wird im Folgenden verzichtet, da nach der Supplementierung der Varianten 1.6 und 2.6 ab dem 16. Lebenstag keine weitergehenden Erkenntnisse bzgl. der Riboflavin-Versorgung in der zweiten Fütterungsphase (nur am Standort LVFZ durchgeführt) auftraten.

4.2.7.2 Futteraufnahme

Die durchschnittliche Futteraufnahme in den verschiedenen Varianten ist Tabelle 41 zu entnehmen. Die Tiere der AS-Gruppe 1 verzehrten über die gesamte Versuchsdauer signifikant mehr Futter als die Tiere der AS-Gruppe 2. Bei den Varianten der Riboflavin-Versorgungsstufen konnten, bis auf die Variante mit der geringsten Versorgung, keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Die Riboflavin Variante 6 hatte ab der zweiten Woche bis Versuchsende signifikant niedrigere Futteraufnahmen gezeigt als die restlichen Gruppen. Auch bei der kumulativen Futteraufnahme über den gesamten Aufzuchtzeitraum lagen die Gruppen der Stufe 6 signifikant unter dem Niveau der übrigen Varianten.

4.2.7.3 Gewichtsentwicklungen

Die Gewichtsentwicklung sowie die im Versuch erzielten Tageszunahmen sind in der Tabelle 42 dokumentiert. Da die Einstellungs Gewichte der Tiere gleichmäßig verteilt worden waren, unterschieden sich die Gewichte an Tag 0 nicht. Bei den Lebendgewichten waren Unterschiede zwischen den Aminosäuregruppen zu erkennen. Die Gruppen mit geringerer Aminosäureausstattung hatten erwartungsgemäß nicht ihr Wachstumspotential ausschöpfen können und blieben signifikant hinter den höher versorgten Gruppen zurück. Bereits ab Tag 7 waren die Tiere der AS-Stufe 2 signifikant leichter. Dies änderte sich bis zum Versuchsende nicht. Ähnlich verhielt es sich auch mit der Tiergruppe in der niedrigsten Riboflavin-Versorgungsstufe 6. Diese Varianten waren durchweg signifikant leichter als die Vergleichsvarianten.

Diese Beobachtungen spiegelten sich auch in den Tageszunahmen der Tiere wider. Während die AS-Stufe 1 höhere tägliche Zunahmen zeigten, wiesen die Riboflavin-Gruppen, bis auf die Varianten 6, hierbei keine statistisch gesicherten Unterschiede auf. Überraschend lagen hier die Varianten 3, 4 und 5 der Riboflavin-Versorgungsstufen über beide AS-Stufen hinweg tendenziell leicht vor den besser versorgten Riboflavin-Gruppen 1 und 2. Die deutlich geringsten Zunahmen ließen wieder die Varianten 1.6 und 2.6 erkennen.

4.2.7.4 Futtermittelverwertung

Der durchschnittliche Futtermittelaufwand pro kg Lebendmassezunahme ist in der Tabelle 42 dokumentiert. Für die Fütterungsgruppen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Futtermittelverwertung ermittelt werden. Tendenziell ist bei der AS-Versorgungsstufe 2 eine schlechtere Futtermittelverwertung erkennbar, das heißt, dass etwas mehr Futter je kg Zunahme verzehrt werden musste, um die gleichen Zunahmen generieren zu können.

Zwischen den Riboflavin-Stufen konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Tabelle 41: Durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme (g/d) von männlichen Mastputen (Aufzuchtphase) aus ökologischer Erzeugung in Abhängigkeit von der Versorgung mit essentiellen Aminosäuren (Aminosäuren-Stufe) und Riboflavin (Vitamin B₂-Stufe) (LS-Means ± SE)

Merkmal	Aminosäuren-Stufe		SE	P-Wert	Vitamin B ₂ -Stufe						SE	P-Wert
	1	2			1	2	3	4	5	6		
Futtermittelaufnahme (1.-7.Tag)	27,4	26,5	1,14	0,5737	31,0	25,5	27,1	25,7	26,6	26,0	1,97	0,3901
Futtermittelaufnahme (7.-14.Tag)	30,4	29,0	1,32	0,4626	28,8 ^{a 2)}	28,8 ^a	32,6 ^a	32,2 ^a	33,6 ^a	22,0 ^b	2,28	0,0105
Futtermittelaufnahme (14.-28.Tag)	61,1	55,8	1,21	0,0039	58,1 ^a	58,7 ^a	62,2 ^a	62,4 ^a	58,9 ^a	50,4 ^b	2,09	0,0029
Futtermittelaufnahme (1.-28.Tag)	1259,6	1170,3	21,88	0,0063	1231,6 ^a	1202,9 ^a	1288,8 ^a	1278,3 ^a	1247,2 ^a	1040,9 ^b	37,90	0,0004

^{a,b} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (P<0,05).

Tabelle 42: Durchschnittliche Lebendmasseentwicklung (in g) von männlichen Mastputen (Aufzuchtphase) aus ökologischer Erzeugung in Abhängigkeit von der Versorgung mit essentiellen Aminosäuren (Aminosäuren-Stufe) und Riboflavin (Vitamin B2-Stufe) (LS-Means ± SE)

Merkmal	Aminosäuren-Stufe		SE	P-Wert	Vitamin B2-Stufe						SE	P-Wert
	1	2			1	2	3	4	5	6		
Lebendmasse (1. Tag)	57,4	57,4	0,04	1,0000	57,5	57,4	57,5	57,3	57,4	57,3	0,07	0,0579
Lebendmasse (7. Tag)	147,1	139,3	1,21	<,0001	144,0 ^a	146,0 ^a	148,0 ^a	147,7 ^a	142,5 ^a	130,8 ^b	2,09	<,0001
Lebendmasse (14. Tag)	304,7	276,3	2,77	<,0001	288,8 ^b	296,3 ^{ab}	306,7 ^a	302,0 ^{ab}	300,0 ^{ab}	249,0 ^c	4,80	<,0001
Lebendmasse (28.Tag)	936,6	836,1	9,57	<,0001	886,5 ^a	892,2 ^a	925,6 ^a	927,2 ^a	904,9 ^a	781,6 ^b	16,58	<,0001
Tageszunahmen (1. – 28. Tag)	31,4	27,8	0,34	<,0001	29,6 ^a	29,8 ^a	31,0 ^a	31,0 ^a	30,3 ^a	25,9 ^b	0,59	<,0001

^{a,b,c} unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (P<0,05).

Tabelle 43: Durchschnittlicher Futtermittelverbrauch pro kg Zuwachs (in kg/kg) von männlichen Mastputen (Aufzuchtphase) aus ökologischer Erzeugung in Abhängigkeit von der Versorgung mit essentiellen Aminosäuren (Aminosäuren-Stufe) und Riboflavin (Vitamin B₂-Stufe) (LS-Means ± SE)

Merkmal	Aminosäuren-Stufe		SE	P-Wert	Vitamin B ₂ -Stufe						SE	P-Wert
	1	2			1	2	3	4	5	6		
Futtermittelverbrauch (1.-7.Tag)	2,13	2,23	0,10	0,4768	2,44	1,97	2,05	1,98	2,15	2,51	0,17	0,0992
Futtermittelverbrauch (7.-14.Tag)	1,35	1,48	0,06	0,1301	1,41	1,34	1,44	1,46	1,51	1,30	0,10	0,7393
Futtermittelverbrauch (14.-28.Tag)	1,35	1,40	0,03	0,1924	1,38	1,38	1,41	1,41	1,37	1,32	0,05	0,7771
Futtermittelverbrauch (1.-28.Tag)	1,43	1,49	0,03	0,0833	1,49	1,44	1,48	1,47	1,47	1,42	0,04	0,8329

4.2.7.5 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren

Auffällig vor allem wegen ihrer Koordinationsstörungen und ihres unsicheren Ganges waren die Tiere der Gruppen 1.6 und 2.6. Infolgedessen traten die typischen Zehenverkrümmungen (Abbildung 25) und Lähmungserscheinungen auf, bis hin zur vollständigen Unfähigkeit zur Fortbewegung. Verkrustungen am Schnabel und Erbrechen, wie sie in anderen Literaturquellen für Riboflavin-Mangel genannt wurden, konnten nicht beobachtet werden.



Abbildung 25: "Curled-Toe-Paralysis", eine für Riboflavin - Mangel typische Mangelerscheinung bei einem Versuchstier

Aufgrund verstärkt auftretender Probleme beim Laufen einiger Küken ab der zweiten Lebenswoche wurde beschlossen, diese Bewegungsauffälligkeiten zu bewerten. Der "Gait Score" ist eine subjektive visuelle Beurteilung des Bewegungsablaufes von Geflügel durch einen sechsstufigen Bewertungsschlüssel, um das Ausmaß der Lahmheit innerhalb einer Herde abschätzen zu können. Der Gait Score wurde an drei Terminen durchgeführt. Am Tag 14 des Versuches, wurden die extremen Gruppen der Riboflavin-Versorgungsstufen 1 und 6 bewertet. Am Tag 21 des Versuches wurde der Test bei allen Gruppen und am Tag 28 bei den Riboflavin-Varianten 5, 6 und 1 durchgeführt. Beurteilt wurden die Tiere jeweils durch dieselbe Person, um interpersonelle Beurteilungsdifferenzen zu minimieren. Eine Begutachtung erfolgte innerhalb der Boxen für jedes Tier separat. Die unterschiedlichen Scores werden wie in Tabelle 44 beschrieben:

Tabelle 44: Stufen des „Gait Score“ zur Bewertung von Auffälligkeiten im Gangbild von jungem Mastgeflügel

Gait Score	Beschreibung
Score 0	Normalzustand gesunder Putenküken. Der Gang ist normal, beweglich und munter mit einem "Hühner-typischem" Schreiten. Alle Gelenke, auch die der Zehen, werden beim Laufen mit abgeknickt. Der Gang ist lebendig und Schritte werden gezielt gesetzt. Der Kopf schwingt mit.
Score 1	Kein "Huhn-typisches" Schreiten, aber keine Lahmheit sichtbar. Ganz leichte Abweichungen vom normalen Gang, aber schwer zu definieren, evtl. werden Gelenke nicht gut gebeugt, Kopf schwingt weniger mit.
Score 2	Undeutliche Lahmheit wahrnehmbar, keine Seite der Lahmheit festzulegen. Die Lahmheit lässt sich rechter oder linker Seite zuordnen oder ein schwankender Gang ist zu erkennen oder das Tier fußt mit einem oder beiden Beinen nicht vernünftig auf. Evtl. wird durch Flügelschlagen versucht Balance zu halten.
Score 3	Einseitige Lahmheit deutlich sichtbar. Erste Anzeichen für Grätscher, Tiere lahmen, Tiere schwanken im Gang, benutzen häufig ihre Flügel, um die Balance zu halten.
Score 4	Tier läuft wenige Schritte und sitzt ab. Tiere lassen sich schwer treiben und setzen sich immer wieder ab.
Score 5	Tier kann nicht aufstehen. Tiere können kaum mehr laufen.

Die Ergebnisse des "Gait Score" waren eindeutig: Deutlich am schlechtesten schnitten die Riboflavin-Versorgungsstufen 6 ab. Diese Gruppen fielen bereits durch weniger Aktivität, unsicheren Gang und Tiere in hilfloser Rückenlage auf. Beim erstmaligen Durchführen des Tests an Tag 14 war dies noch am deutlichsten zu sehen. 38 % der Tiere in den Varianten 1.6 und 2.6 waren diesbezüglich unterschiedlich stark auffällig. Aufgrund der dramatischen Verschlechterung dieses Zustands wurde ab dem 16. Tag über das Tränkwasser die Fermentations-Suspension (EcoVit R) in diesen Gruppen bis Versuchsende supplementiert. Dennoch ergab der "Gait Score" auch am Tag 21 noch immer eine schlechtere Bewegungsqualität dieser Varianten. Selbst fünf Tage nach Supplementierung mit Riboflavin über das Tränkwasser fielen noch 33 % der Tiere in den Gruppen der 6er Riboflavin-Stufen am deutlichsten durch Störungen im Bewegungsablauf auf (Abbildung 25). Auch bis zum Ende der Aufzuchtphase konnten sich die Tiere aus diesen Varianten nicht mehr erholen und zeigten auch am Tag 28 immer noch zu 33 % Auffälligkeiten, wenn auch nur leichte. Zu erkennen war jedoch im Verlauf des Versuchs eine Besserung in der Schwere der Bewegungsstörungen (Tabelle 45). Zweifellos liegt dies an der zusätzlichen Supplementierung des im Mangel gewesenen Riboflavins. Aber auch das Ausscheiden von drei stark betroffenen Tieren nach dem ersten "Gait Score" wirkt sich rechnerisch auf die Anteile der auffälligen Tiere aus. In allen anderen Varianten konnten keine besonderen Auffälligkeiten erkannt werden.

Tabelle 45: Ausprägung des Gait Scores der auffälligen Tiere aus den Varianten 1.6 und 2.6 (Score 0 bis 5)

	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Anteil auffälliger Tiere	38 %	33 %	33 %
durchschnittlicher "Gait Score" auffälliger Tiere	1,55	1,07	1,00
durchschnittlicher "Gait Score" aller Tiere	0,596	0,357	0,333

Verstorbene Tiere aus Zurnhausen wurden vom TGD Bayern (Grub) pathologisch auf Auffälligkeiten und zwecks Ursachenforschung untersucht. Weiterhin wurden an zwei Terminen durch Bewegungsstörungen auffällige Tiere sachgerecht notgetötet und ebenfalls der pathologischen Untersuchung des TGD zugeführt. Die ersten Tiere wurden nach den ersten Todesfällen und stärkeren Auffälligkeiten im Gangbild einiger Tiere am Tag 16 des Versuches untersucht. Die zweite Untersuchungsreihe war nach Versuchsende am Tag 28. Hier wurden maximal zwei, in ihren Bewegungen durch den "Gait Score" erkannte, auffällige Tiere pro Box getötet und anschließend zum TGD verbracht.

Ein Riboflavin-Mangel beim Geflügel kann bei einer pathologischen Untersuchung durch Betrachtung des Nervus ischiadicus eindeutig bestimmt werden. Charakteristisch hierfür ist eine periphere Neuropathie durch eine Aktivierung und Hyperplasie der Schwann-Zellen und Degeneration mit zytoplasmatischen Lipidtropfen und segmentaler Demyelinisation. Zudem kommt es zu endoneuralen Ödemen und geringen axonalen Degenerationen.

Insgesamt wurden 13 Tiere (Station Zurnhausen) vom TGD auf körperliche Auffälligkeiten untersucht. Zusammenfassend konnte durch die Organ- und Gewebsuntersuchungen durch das Labor des TGD an 11 dieser 13 untersuchten Tieren ein mindestens geringgradiger Riboflavin-Mangel bewiesen werden. Es konnten eine deutliche Aktivierung und Proliferation der Schwann-Zellen in beiden Nervensträngen und vereinzelt perivaskuläre gemischtzellige Infiltrate beobachtet werden. In den histologischen Untersuchungen konnte man zwischen milden und deutlichen Hyperplasien und Aktivierung der Schwann-Zellen unterscheiden. Insgesamt zeigten drei Tiere eine hochgradige, zwei Tiere eine Mittelgradige und sechs Tiere eine geringgradige Neuropathie. Diese Veränderungen sind eindeutig und in diesem Zusammenhang unverwechselbar in einem Riboflavin-Mangel begründet.

4.2.8 Versuch 6: Fütterungsversuch mit Legehennen mit dem Fermentations-Trockenprodukt

Da die Tiere sowohl in Ihrer körperlichen Entwicklung wie auch in der Legeleistung zum Zeitpunkt der Einstellung (33. Lebenswoche) noch Defizite aufwiesen, wurde entschieden, vor dem eigentlichen Versuchsstart eine zweiwöchige Eingewöhnungsphase durchzuführen. Der offizielle Versuchsstart fiel somit auf den 19.09.2019. Der Versuch dauerte insgesamt 7 Wochen an.

4.2.8.1 Leistungsparameter

Die Leistungsdaten aus dem Versuch sind in Tabelle 46 und Tabelle 47 dokumentiert. Auffallend ist der hohe Futtermittelverbrauch während des Versuchs, der zum einen auf den Kompensationsbedarf der Tiere

(Soll-Lebendgewicht in der 33. Lebenswoche liegt nach Vorgaben des Zuchtunternehmens (Lohmann) bei 1.981 g), dem generell sehr hohen Leistungsniveau aber auch Futtermittelsverschwendung geschuldet sein dürfte.

Grundsätzlich kann aus den biologischen Leistungsdaten abgeleitet werden, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen in Abhängigkeit der Riboflavin-Gehalte zu beobachten waren ($P > 0,05$).

Tabelle 46: Futterverbrauch und Gewichtsentwicklung der Legehennen vor und während der Versuchsperiode (2 Wochen Vor-Versuch und 7 Wochen Versuchsdauer) (LS-Means \pm SE)

Merkmal	Einheit	LM 2,0	LM 3,0	LM 4,0	SE	P-Wert
Futterverbrauch						
Vor-Versuch	g/Tier u. Tag	136	133	131	4,5	0,7139
Versuch (1. – 7. Woche)	g/Tier u. Tag	151	146	145	4,6	0,6576
Gritverbrauch						
Vor-Versuch	g/Tier u. Tag	3,6	4	3,8	0,41	0,81
Versuch (1. – 7. Woche)	g/Tier u. Tag	5,8	5,4	5	0,4	0,377
Lebendgewichte						
Einstellung (33. Lebenswoche)	g/Tier	1.772	1.770	1.768	3,2	0,68
Versuchsstart	g/Tier	1.849	1.864	1.822	17,4	0,2789
2. Versuchswoche	g/Tier	1.903	1.924	1.893	15,5	0,3775
4. Versuchswoche	g/Tier	1.949	1.977	1.930	23,5	0,4101
7. Versuchswoche	g/Tier	2.008	2.000	1.949	16	0,0554
Zunahmen						
Vor-Versuch	g/Tier u. Woche	38,7	47,0	27,0	8,61	0,3077
Versuch (1. – 7. Woche)	g/Tier u. Woche	22,7	19,5	18,1	1,97	0,2927

Tabelle 47: Legeleistungsdaten sowie die Eierklassensortierung der Versuchsgruppen vor und während des Versuchs (2 Wochen Vor-Versuch und 7 Wochen Versuchsdauer) (LS-Means ± SE).

Merkmal	Einheit	LM 2,0	LM 3,0	LM 4,0	SE	P-Wert
Legeleistung						
Vor-Versuch	%	76,9	85,3	82	3,56	0,2973
Versuch (1. – 7. Woche)	%	94,2	94,6	93,2	1,47	0,773
Durchschn. Eigewicht						
Versuchsstart	g/Ei	58,9	59,2	59,3	0,92	0,9509
2. Versuchswoche	g/Ei	60,5	62,0	60,6	0,75	0,3403
4. Versuchswoche	g/Ei	62,5	64,5	62,6	0,96	0,2904
7. Versuchswoche	g/Ei	64,7	65,9	64,0	0,77	0,2504
Vor-Versuch	g/Ei	59,6	60,0	59,4	0,75	0,8796
Versuch (1. – 7. Woche)	g/Ei	62,5	63,8	62,2	0,79	0,3515
Produzierte Eimasse						
Vor-Versuch	g/Tag	45,6	51,0	48,7	2,18	0,2692
Versuch (1. – 7. Woche)	g/Tag	58,9	60,4	58,0	1,43	0,5121
Eisortierung Vorversuch						
S	%	6,2	7,3	6,0	2,11	0,8923
M	%	72,1	71,7	73,4	7,21	0,9852
L	%	21,7	18,5	20,6	7,8	0,9564
XL	%	0,0	2,5	0,0	0,85	0,104
Eisortierung Versuch						
S	%	2,6	1,3	1,0	0,84	0,3841
M	%	45,8	41,7	51,5	6,12	0,5416
L	%	49,1	51,6	45,2	5,84	0,7444
XL	%	2,5	5,4	2,3	2,09	0,5338

4.2.8.2 Gesundheits- und Tierwohlintikatoren

Es konnte kein gerichteter oder gar signifikanter Zusammenhang zwischen der Riboflavin-Konzentration im Legemehl und der Konzentration je kg Vollei ermittelt werden. Hier lagen die Durchschnittswerte bei 4,13 mg/kg (LM 2,0), 4,35 mg/kg (LM 3,0) bzw. 4,20 mg/kg (LM 4,0), jeweils bezogen auf die Originalsubstanz (Tabelle 48).

Tabelle 48: Riboflavin-Gehalte im Vollei sowie in den Lebern ausgewählter Legehennen (LS Means)

Merkmal	Einheit	LM 2,0	LM 3,0	LM 4,0	SE	p-Wert
Riboflavin-Gehalt Eier						
Gesamt	mg/kg	4,13	4,35	4,20	0,13	0,6961
17.10.2019	mg/kg	3,99	4,39	4,28	0,11	0,8922
07.11.2019	mg/kg	4,28	4,31	4,13		
Riboflavin-Gehalt Lebern						
07.11.2019	mg/kg	19,0	18,1	20,8	0,84	0,1285

Auch bei den Analysewerten der Hühnerlebern konnte keine Signifikanz festgestellt werden. Hier lagen die Durchschnittswerte bei 19,0 mg/kg (LM 2,0), 18,1 mg/kg (LM 3,0) und 20,8 mg/kg (LM 4,0). Tendenziell ist die höchste Riboflavin-Konzentration in LM 4,0 und die größte Streuung der gemessenen Werte in LM 3,0 zu erkennen.

Bei der Analyse der Verteilung des Riboflavins innerhalb des Eies wurden 2 Eier je Variante beprobt. Aufgrund der geringen Anzahl der Proben ist keine statistische Auswertung möglich. Aber auch hier zeigten sich keine deutlichen Unterschiede zwischen den Varianten. Lediglich die bei der nicht mit EcoVit-R supplementierten Variante etwas geringeren Riboflavin-Konzentrationen im Eiweiß (TM) könnten auf eine Verschiebung der Verhältnisse der Riboflavin-Konzentrationen innerhalb des Eies hindeuten (Tabelle 49).

Tabelle 49: Riboflavin-Verteilung in Eidotter und Eiklar (je Variante wurden zwei mittelwertsnahe Eier vom 07.11.2019 untersucht, arithmetische Mittelwerte, jeweils bezogen auf die Originalsubstanz (OS) – sofern nicht anders angegeben)

Probe	Variante	Riboflavin-Gehalte bzw. Anteile je Ei											
		Eiklar	Eidotter	Eiklar	Eidotter	Eiklar	Eidotter	Eiklar	Eidotter	Eiklar	Eidotter	Eiklar	Eidotter
		g/Ei	g/Ei	Anteil	Anteil	mg/kg	mg/kg	mg/Ei	mg/Ei	Anteil	Anteil	mg/kg TM	mg/kg TM
I-1-LM 2,0-3R		38,5	16,8	69,6%	30,4%	3,30	5,40	1,27	0,91	58%	42%	26,0	10,8
3-4-LM 2,0-3R		37,6	16,3	69,8%	30,2%	3,00	4,20	1,13	0,68	62%	38%	23,6	8,4
Mittelwert	LM 2,0	38,1	16,6	69,7%	30,3%	3,15	4,80	1,20	0,80	60%	40%	24,8	9,6
I-4-LM 3,0-3R		39,8	17,1	69,9%	30,1%	3,20	4,60	1,27	0,79	62%	38%	25,2	9,2
3-3-LM 3,0-3R		38,9	16,1	70,7%	29,3%	4,90	5,70	1,91	0,92	68%	32%	38,6	11,4
Mittelwert	LM 3,0	39,4	16,6	70,3%	29,7%	4,05	5,15	1,59	0,85	65%	35%	31,9	10,3
I-3-LM 4,0-3R		40,5	17,4	69,9%	30,1%	3,80	5,10	1,54	0,89	63%	37%	29,9	10,2
3-1-LM 4,0-3R		40,5	16,8	70,7%	29,3%	4,30	5,10	1,74	0,86	67%	33%	33,9	10,2
Mittelwert	LM 4,0	40,5	17,1	70,3%	29,7%	4,05	5,10	1,64	0,87	65%	35%	31,9	10,2

5. Diskussion der Ergebnisse

5.1 Masthühner

Aufgrund fehlender Daten kann die Ableitung des Vitaminbedarfes bei Geflügel nicht faktoriell erfolgen, sondern wird aus Dosis-Wirkungs-Studien abgeleitet. Weltweit werden die Empfehlungen des US-amerikanischen National Research Councils (NRC, 1994) am häufigsten verwendet. Dies gilt für die konventionelle als auch die ökologische Geflügelfütterung. Nichtsdestotrotz steht in Frage inwieweit diese Empfehlungen aus den 90er Jahren noch den aktuellen Produktionsbedingungen entsprechen. Eine Aktualisierung und Anpassung an aktuelle Fütterungsstrategien scheint notwendig (Leeson, 2007). In der Praxis werden die vom NRC publizierten Empfehlungen mit großen Sicherheitszuschlägen versehen, unter anderem da die Vitaminproduktion mit genetisch modifizierten Bakterien, Hefepilzen und Hefen sehr effizient und kosteneffektiv ist. Native Vitamingehalte der Einzelfuttermittelkomponenten werden in der Regel bei der Rationsgestaltung nicht berücksichtigt. Die natürlichen Gehalte der Futtermischungen können in Abhängigkeit der verwendeten Einzelfuttermittelkomponenten stark schwanken (NRC, 1994; Witten and Aulrich, 2018). Die Vitaminsupplementierungen wurden in der Praxis auch aufgrund der in den letzten Jahrzehnten stark gestiegenen Wachstumsleistung des Mastgeflügels gesteigert (Siegel, 2014). Für langsam wachsende Masthühner und ökologische Produktionsbedingungen sind bislang keine Daten zum Vitaminbedarf vorhanden.

Da im ökologischen Landbau der Einsatz von Vitaminen aus Produktion mit genetisch modifizierten Mikroorganismen, welche das Risiko der Übertragung von Antibiotika-Resistenzen bergen (Rychen *et al.*, 2018), verboten ist, sind Alternativen notwendig.

In **Versuch 1** wurde die im Rahmen des Projektes entwickelte Fermentations-Suspension des Hefe-Pilzes *A. gossypii* ohne genetische Veränderungen bei langsam wachsenden Masthühnern getestet. Neben einer Mischung ohne Vitamin-B2-Supplementierung, d.h. mit lediglich nativem B2-Gehalt der Einzelfuttermittelkomponenten, wurde die Suspension in zwei unterschiedlichen Dosierungen eingesetzt. Eine weitere Versuchsmischung enthielt ein am Markt verfügbares konventionelles Riboflavin-Produkt.

In **Versuch 2** wurde darauf aufbauend das Trockenprodukt aus der *A. gossypii*-Fermentation in zwei Durchgängen eingesetzt. Hierbei wurden im Gegensatz zum ersten Versuch die nativen Gehalte der Futterkomponenten bei der Rationsgestaltung einbezogen. Im ersten Durchgang wurde neben einer Futtermischung ohne Supplementierung das Trockenprodukt in drei Abstufungen untersucht. Die höchste Dosierung entsprach in etwa den in der Praxis eingesetzten B2-Leveln. Im zweiten Durchgang wurden die Dosierungen dahingehend angepasst, dass im Starterfutter die Dosierungen aus dem ersten Durchgang eingesetzt wurden, die den Bedarf der Tiere ausreichend decken und in den späteren Mastabschnitten der Riboflavin-Supplementierung reduziert wurde.

Die Nährstoffgehalte der Fermentations-Suspension und des Trockenproduktes beeinflussen in ihrer niedrig eingesetzten Dosierungsstufe die Zusammensetzung der Futtermittelmischung nicht. Beim Zusatz der Fermentations-Suspension in der hohen Dosierung kam es jedoch zu einer Verminderung des Trockensubstanzgehaltes und erhöht

damit die Gefahr der Nacherwärmung bei unsachgemäßer Lagerung. Auch wenn die Nutzung der Fermentations-Suspension unter praktischen Gesichtspunkten möglich ist, zeigte sich der Einsatz des Trockenproduktes als vielversprechender.

In **Versuch 1** lagen die nativen Riboflavin-Gehalte bei 3,05 und 1,99 mg/kg im Starter- und Mastfutter. Diese Gehalte können im Vergleich zu praxisüblichen Futtermischungen als hoch eingeschätzt werden. Dies kann vor allem mit dem Einsatz von Bierhefe mit einem Riboflavin-Gehalt von 20,40 mg/kg im Starterfutter und Grasmehl (8,81 mg/kg) im Mastfutter erklärt werden. Dies erklärt auch, dass bei Tieren, die mit der Futtermischung ohne B2-Supplementierung gefüttert wurden, weder klinische Symptome eines Riboflavin-Mangels noch eine erhöhte Mortalität festgestellt wurden.

In **Versuch 2** lag der Gehalt des Starterfutters, dem kein Vitamin B2 zugesetzt wurde, bei einem Vitamin B2-Gehalt von 2,86 mg/kg Futter. Dies führte in Folge zu Riboflavin-Mangelsymptomen in Form von gering- bis mittelgradigen subakuten Degenerationen der Ischiasnerven in der zweiten Lebenswoche.

Zu beachten ist hierbei zunächst, dass die Wachstumsleistung im Vergleich zu Versuch 1, bei dem ein um 0,2 mg/kg höherer Riboflavin-Gehalt in der NATIV-Futtermischung keine Mangelsymptome hervorrief, in Versuch 2 höher war. Während in Versuch 1 die Tiere der NATIV-Gruppe am Ende der ersten Lebenswoche 83 g und am Ende der zweiten 162 g wogen, waren es in Versuch 2 im ersten Durchgang bei der NATIV-Gruppe 95 g bzw. 243 g in den jeweiligen Wochen.

Neben Leistungsparametern, die als sehr sensitiver Indikator für einen Riboflavin-Mangel gelten (Wyatt et al., 1973), bedarf es noch näherer Untersuchungen wie sich diese in Verbindung mit dem Riboflavin-Gehalt im Gehirn, der Leber und dem Herz verhalten. Nach Untersuchung dieser Organe konnten Olkowski und Classen (1998) eine Beziehung zwischen der Riboflavin-Aufnahme und dem Riboflavin-Status in den Organen zeigen. Am ausgeprägtesten war der Effekt am 7. und 14. Lebenstag. Bei Fütterung einer Grundmischung mit einem Riboflavin-Gehalt von 2,3 mg/kg zeigten die Masthühner keine klinischen Anzeichen, aber bei einigen Masthühnern wurde bereits ein geringer Mangel in Form einer Beinschwäche festgestellt. Bei einem Riboflavin-Gehalt von 1,8 mg/kg fanden Cai et al. (2006) bei Masthühnern eine Nervendegeneration ab dem 11. Lebenstag. Langsam wachsende Masthühner sind weniger anfällig für Neuropathien (Chung and Baker, 1990), so dass Mangelsymptome möglicherweise weniger ausgeprägt sind als bei schnell-wachsenden Genotypen. Zeichen eines Mangels lassen sich auch bei anderen Tierwohlindikatoren beobachten. Beispielsweise können ein veränderter Befiederungszustand oder ein Anstieg von Fußballendermatitis mit einer Beinschwäche als Folge eines Mangels einhergehen (Shepherd and Fairchild, 2010).

Entscheidend ist folglich eine ausreichende Riboflavin-Bedarfsdeckung in den ersten Tagen und Wochen, da eine Unterversorgung in dieser Lebensphase zu verringerter Leistung und klinischen Symptomen einer Beinparalyse („curled toe paralysis“) führen (Johnson and Storts, 1988; Cai, Finnie and Blumbergs, 2006). Für schnell-wachsende Masthühner reichte eine Riboflavin-Supplementierung von 1 bis 2 mg/kg aus, um das maximale Leistungsniveau zu erreichen (Olkowski and Classen, 1998). Unter tropischen Bedingungen mit einem geringeren Leistungsniveau war dies erst bei einer Supplementierung von 5,1

mg/kg erreicht (Ogunmodede, 1977). In **Versuch 1** führte die hohe Riboflavin-Supplementierung zu einem Anstieg der Wachstumsleistung, wobei das Leistungsniveau nicht das Niveau des Zuchtunternehmens (48 g/d bei einem Schlachalter von 63 Tagen) erreichte (Aviagen, 2018). Bei diesem Supplementierungslevel unterschied sich das konventionelle Riboflavin-Produkt nicht von der getesteten Fermentations-Suspension. Die Effekte auf das Wachstum lassen sich auf die gesteigerte Futterraufnahme zurückführen; die Futtermittelverwertung wurde nicht beeinflusst. Im Gegensatz dazu fanden Olkowski and Classen (1998) keinen Effekt einer steigenden Riboflavin-Supplementierung von 1 bis 10 mg/kg auf den Futtermittelverbrauch.

In Bezug auf den Europäischen Broiler Index, der die wichtigsten Leistungsparameter (tägliche Zunahme, Futtermittelverwertung, Mortalität) umfasst, spiegelten die berechneten Werte die Unterschiede der Gruppen hinsichtlich des Körpergewichtes wider. Insgesamt war das Leistungsniveau des **Versuches 1** vergleichbar mit Zunahmen, die Rezaei et al. (2018) für den langsam wachsenden Genotyp Rowan Ranger fanden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse der Schlachtparameter beider Versuche muss berücksichtigt werden, dass die Lebend- und Schlachtgewichte der Tiere für die Schlachtuntersuchungen teilweise von den Mittelwerten aller Versuchstiere abwichen und in Versuch 1 Unterschiede im Lebendgewicht zwischen den Versuchsgruppen hervorriefen. Die bessere Ausschachtung der Gruppen A-HOCH im Vergleich zu allen anderen Gruppen führte nicht zu Unterschieden beim Anteil der wertvollen Teilstücke. Die Riboflavin-Supplementierung in hoher Dosierung unabhängig von der Riboflavin-Quelle führte zu geringeren Anteilen der Lebern, wobei der höchste Anteil an auffälligen Lebern (Score 2) in der Gruppe mit dem konventionellen Riboflavin-Produkt gefunden wurde. Die Beziehung zwischen der Riboflavin-Quelle und -Dosierung und Effekten auf den Leberstoffwechsel müssen jedoch noch weiter untersucht werden. Die Bestimmung des Riboflavin-Gehaltes in unterschiedlichen Organen scheint am geeignetsten, um Grenzwerte für einen Riboflavin-Mangel neben der Nutzung von Leistungsparametern absichern zu können.

Aus ökonomischen Gründen wird eine Reduktion der Riboflavin-Supplementierung relevant, da die Produktion des entwickelten Fermentationsproduktes im Vergleich zu konventionellen Vitamin-B2-Produkten auf Basis von genetisch modifizierten Mikroorganismen wesentlich kostenintensiver ist. In **Versuch 1** verursachte der Einsatz der Fermentations-Suspension in hoher Konzentration auf Basis der Versuchsbedingungen (Futtermittelaufnahme, Dosierungshöhe, Riboflavin-Konzentration der Fermentations-Suspension, Preis der Fermentations-Suspension) zu Mehrkosten von 12,9 Cent pro Tier.

In **Versuch 2** wurde darauf aufbauend, eine Reduktion der Riboflavin-Supplementierung getestet. Nach den Ergebnissen des ersten Durchganges muss die NATIV-Variante im Starterfutter aufgrund der nicht erreichten Bedarfsdeckung ausgeschlossen werden. Die Variante HOCH führte nicht zu verbesserten Ergebnissen in Bezug auf die untersuchten Leistungs-, Schlacht- und Gesundheitsparameter. Im zweiten Durchgang des **Versuches 2** wurden im Starterfutter entsprechend die beiden Varianten NIEDRIG und MITTEL verwendet, die eine ausreichende Bedarfsdeckung in den ersten zwei Lebenswochen darstellte. Für die beiden weiteren Mastabschnitte erfolgte eine Reduktion der Riboflavin-Supplementierung.

Als Schlussfolgerungen aus den beiden Versuchen bei Masthühnern und dem zusätzlichen Praxisversuch kann festgestellt werden, dass die untersuchte Fermentations-Suspension als auch das Trockenprodukt auf Basis der *A. gossypii*-Fermentation als Alternative zu konventionell produzierten Vitamin B₂ aus der Produktion genetisch modifizierter Mikroorganismen zur Riboflavin-Bedarfsdeckung eingesetzt werden kann. Eine ausschließlich auf den nativen Riboflavin-Gehalten der Einzelfutterkomponenten basierende Fütterung reicht vor allen während der ersten zwei Lebenswochen nicht aus und führte zu klinischen Symptomen eines Riboflavin-Mangels. Aus ökonomischen Gründen können die Riboflavin-Supplementierung unter Berücksichtigung der nativen Gehalte der Einzelfutterkomponenten während der späteren Mastabschnitte ohne Gefahr einer Unterversorgung auf Supplementierungen von 1 bis 2 mg/kg abgesenkt werden. Einschränkend muss erwähnt werden, dass die Ergebnisse nur an langsam wachsenden Masthühnern erhoben wurden.

5.2 Masthühner-Elterntiere

Neben einer Futtermischung ohne Riboflavin-Supplementierung wurde in diesem Versuch die Fermentations-Suspension der *A. gossypii* Fermentation in unterschiedlicher Dosierung mit einem konventionellen Riboflavin-Produkt verglichen.

Die NATIV-Futtermischung ohne zusätzliche Riboflavin-Supplementierung wies einen Riboflavin-Gehalt von 2,77 mg/kg auf. Der vergleichsweise hohe Riboflavin-Gehalt lässt sich auf den Einsatz von Grünmehl mit einem Gehalt von 12,9 mg/kg, Sojakuchen (3,16 mg/kg) und Rapskuchen (3,04 mg/kg) zurückführen. Diese Einzelfuttermittelkomponenten haben das Potential, Futtermischungen im ökologischen Landbau hinsichtlich des Riboflavin-Gehaltes aufzuwerten. Die von den Zuchtunternehmen empfohlenen Riboflavin-Gehalte für Masthühner-Elterntiere (Hubbard, 2017), die das Drei- bis Vierfache der NRC-Bedarfsempfehlungen (NRC, 1994) betragen, können damit jedoch nicht erreicht werden.

Bei Zusatz des Agrano-Produktes waren die Gehalte an Vitamin B₂ höher als ursprünglich berechnet und lagen über denen der Positivkontrolle. Bei Voruntersuchungen von 6 Einzelproben desselben Legehennenfutters wurde bei einem mittleren Riboflavin-Gehalt von $6,43 \pm 0,43$ mg/kg ein Variationskoeffizient von 6,7% berechnet. Dies deutet auf die bei der Riboflavin-Bestimmung zu berücksichtigende Ungenauigkeit hin (Gul *et al.*, 2014). Bezüglich der Nährstoffgehalte gab es keine wesentlichen Unterschiede zwischen den vier verglichenen Fütterungsvarianten.

Die Riboflavin-Untersuchung der Futtermischungen am Ende der Versuchsperiode von 10 Monaten zeigte, dass die Riboflavin-Gehalte der Futtermischungen mit der Fermentations-Supplementierung ebenso wie die die mit der konventionellen Riboflavin-Quelle konstant blieben.

Die Futtermischungen zeigten keinen Effekt auf die Legeleistung, wobei in der Gruppe A-10 höhere Eigewichte verzeichnet wurden als in der Gruppe A-3,5. Unter der Annahme, dass der Riboflavin-Bedarf sich mit steigender Legeleistung erhöht, fielen auch die Tiere der NATIV-Gruppe nicht in eine Riboflavin-Mangelsituation, obwohl der Gehalt mit 2,77 mg/kg unter den NRC-Empfehlungen von 3,6 mg/kg für Masthühner-Elterntieren lag.

(NRC, 1994). Die Tatsache, dass sich die Riboflavin-Gehalte der Eier zwischen den Versuchsgruppen nicht unterschieden, unterstreicht dies. In dieser Untersuchung konnte jedoch nicht berücksichtigt werden, inwieweit die Aufnahme von Grünfütter aus dem Grünauslauf zur Riboflavin-Aufnahme beitrug. Obwohl die Datenlage zur Aufnahme von Riboflavin aus dem Grünfütter bei Legehennen in Freilandhaltung unzureichend ist, können Hennen einen gewissen Anteil an Riboflavin über Grünfütter im Auslauf aufnehmen (Crawley, 2015). Dies hat möglicherweise eine unzureichende Riboflavin-Aufnahme in der NATIV-Gruppe ausgeglichen, so dass keine Effekte auf die Leistung bzw. den Riboflavin-Gehalt in den Eiern beobachtet wurde.

Mit Riboflavin-Gehalten, die von 1,55 bis 8,80 mg/kg variierten zeigten Squires and Naber (1993b) eine Beziehung zwischen Riboflavin-Supplementierung und der Legeleistung bzw. dem Riboflavin-Gehalt in den Eiern. Bei Gehalten von 1,55 und 2,20 mg/kg waren Legeleistung, Eigewicht, Schlupffähigkeit und Körpergewicht niedriger als in Gruppen mit Gehalten von 4,40 und 8,80 mg/kg.

In einer Studie an Elterntieren mit Riboflavin-Gehalten von 2,5 bis 12,5 mg/kg fanden Arijeniwa et al. (1996) einen Anstieg der Legeleistung und der Schlupffähigkeit bis zu einem Gehalt von 8,5 mg/kg, während das Eigewicht wie in der aktuellen Untersuchung auch vom Riboflavin-Gehalt nicht beeinflusst wurden. Leeson et al. (1979b) beschrieben eine verminderte Legeleistung in zwei Masthühner-Elterntierlinien bei Tieren, die mit einem Riboflavin-Gehalt von 1,55 mg/kg im Vergleich zu 8,60 mg/kg gefüttert wurden.

Bei Elterntieren besteht bei einer marginalen oder defizitären Riboflavin-Versorgung nicht nur die Gefahr von neurologischen, physiologischen und anatomischen Störungen in den Beinen und Flügeln („curled-toe paralysis“) (Wyatt *et al.*, 1973; Shepherd and Fairchild, 2010; Tang *et al.*, 2017), sondern auch die Gefahr schwere Störungen der embryonalen Entwicklung, die sich in reduzierten Schlupfraten zeigt (Arijeniwa et al., 1996; Leeson et al., 1979a, 1979b, Tang et al., 2019). Bei Masthühnern wird der Dottersack schneller resorbiert als bei Legehennenküken (Sato, Tachibana and Furuse, 2006), so dass ein reduzierte Riboflavin-Gehalte im Dotter bei Masthühnern einen stärkeren Effekt haben als bei Legehennenküken. Unabhängig von der Produktionsrichtung ist eine ausreichende Riboflavin-Versorgung von Elterntieren nicht nur aus ökonomischen Gründen notwendig, sondern auch aus Sicht des Tierwohls.

Der Riboflavin-Gehalt im Ei ist daher neben der Futteranalyse ein wertvoller Indikator für die Bioverfügbarkeit des Vitamins (Naber and Squires, 1993b). Bei mangelernährten Tieren sinkt der Riboflavin-Gehalt im Albumen innerhalb einer Woche (Naber and Squires, 1993a). Im Gegensatz zur langsam sinkenden Legeleistung, sinkt die Schlupffähigkeit unmittelbar ab (Naber and Squires, 1993a). Für eine maximale Schlupffähigkeit wurden Gehalte von 1,9 bis 2,9 µg Riboflavin/g Albumen berichtet (Squires and Naber, 1993). Bislang liegen keine neueren Untersuchungen vor, die auf die aktuellen Produktionsbedingungen angepasst wurden.

Der Riboflavin-Transfer in das Ei sinkt mit steigendem Riboflavin-Gehalt im Futter. Naber and Squires (1993a) wiesen eine Reduktion der Effizienz von 54 bis auf 24 % nach bei einem Anstieg des Riboflavin-Gehaltes im Futter von 1,55 bis 8,80 mg/kg. In den aktuellen Untersuchung kann davon ausgegangen werden, dass in beiden Mischungen mit der hohen

Riboflavin-Supplementierung (A-HOCH und KONV) die maximale Riboflavin-Gehalte im Ei bereits erreicht waren und höhere Supplementierungen nicht mehr zu einem weiteren Anstieg führen. Die Tatsache, dass die Riboflavin-Gehalte im Ei sich zwischen den vier Versuchsmischungen nicht unterschieden, weist darauf hin, dass selbst die NATIV-Tiere ohne Riboflavin-Supplementierung nicht unter einem Riboflavin-Mangel litten. Ein Effekt der Eizusammensetzung kann dabei ausgeschlossen werden, da sich die Anteile von Albumen und Dotter nicht unterschieden. Mit den Daten der NATIV-Tiere lässt sich eine Riboflavin-Aufnahme von 0,29 mg Riboflavin pro Tag über das Futter errechnen. Über die Eier wurden von diesen Tieren täglich 0,20 mg Riboflavin ausgeschieden. Weitere Studien sind notwendig, um die Eignung des Riboflavin-Gehaltes im Ei für eine Vorhersage von Mangelsituation zu evaluieren. Dies wird vor allem dann interessant, wenn die Vitamin-Supplementierung in Folge der Nutzung von höherpreisigen Produkten aus der Fermentation nicht genetisch veränderter Mikroorganismen reduziert wird. Die hohe Kosteneffizienz der GVO-Vitaminproduktion hat dies nicht erfordert. Entsprechend sind aktualisierte Bedarfswerte für Elterntiere sowohl für die aktuellen konventionellen als auch ökologischen Produktionsbedingungen notwendig.

Bei der Interpretation der vorliegenden Ergebnisse insbesondere in Bezug auf die Zuchtleistung müssen die Studienbedingungen berücksichtigt werden. Unterschiede in der Fruchtbarkeit der Hähne können einen Einfluss auf die Befruchtungsrate gehabt haben, wobei die Spermaqualität nicht untersucht wurde. Auch wenn die frühe Embryonensterblichkeit bei Masthühner-Elterntieren (16.4%) höher als bei Legehennen-Elterntieren (11.9%) ist (Thorne, Collins and Sheldon, 1991), waren die geringen Befruchtungsraten vor allem in den Durchgängen 2 und 3 wahrscheinlich auf unterschiedliche Spermaqualitäten der Hähne zurückzuführen. Weiterhin hat der Einsatz nur eines einzigen Hahnes je Gruppe (30 bis 40 Hennen) möglicherweise die Zuchtleistung beeinflusst. In weiteren Studien sollten daher für diese Gruppengrößen mindestens zwei Hähne vorgesehen werden.

Mit dem relativ hohen natürlichen Riboflavin-Gehalt der Grundfuttermischung (NATIV) wurde auch durch Supplementierung von Riboflavin kein Unterschied hinsichtlich Schlupfrate hervorgerufen. Bei Fütterung niedrigerer Gehalte an Riboflavin (1,55 mg/kg) an zwei Masthühner-Elterntierlinien sank die Schlupfrate auf 0 % 13 Wochen, nachdem die Tiere die Riboflavin-Mangeldiät erhielten (Leeson et al., 1979b). In der Studie von Tang et al. (2019) sank die Schlupffähigkeit von Enten 2 Wochen nachdem diese eine Riboflavin-Mangeldiät erhielten auf die Hälfte ab; nach sechs Wochen betrug auch hier die Schlupffähigkeit 0%. Dies verdeutlicht, dass die Grenzwerte bis zu denen der Riboflavin-Gehalt bei Elterntieren abgesenkt werden kann, sorgfältig an die Produktionsbedingungen angepasst werden muss, um Mangelsymptome, die sich in erhöhter embryonaler Sterblichkeit auswirken, zu vermeiden.

Aus den Ergebnissen des Versuches kann abgeleitet werden, dass die Fermentations-Suspension mit hohem Gehalt an natürlichem Riboflavin-Gehalt zur Riboflavin-Bedarfsdeckung bei Masthühner-Elterntieren eingesetzt werden kann.

5.3 Putenaufzucht

Im Vergleich zu den Richtwerten des Zuchtunternehmens Aviagen Turkeys (2019) für die im Versuch geprüften Tiere der Genetik "B.U.T. 6" konnten am Ende der Aufzuchtphase nach 4 Wochen nur 72,6 % der Lebendgewichte erreicht werden. Die abgesenkten Gehalte an Energie und essenziellen Aminosäuren in Verbindung mit dem wachstumshemmenden Vitaminmangel einiger Gruppen sind hier ursächlich. Ökokonforme Futtermittel mit derart abgesenkten Gehalten führen zu geringerem Wachstum im Vergleich zu konventioneller Fütterung. Geringeres Wachstum bedingt ein verringertes Futteraufnahmevermögen und eine verringerte Futteraufnahme, welche in Folge wieder zu geringerem Wachstum führt. In diesem Versuch spielte offenbar - neben der geringen Methionin-Versorgung - auch die knappe Lysin-Versorgung eine Rolle. Dieser Sachverhalt erklärt auch die minimal schlechteren Leistungsdaten der Gruppen 1.1 und 1.2 sowie 2.1. und 2.2 gegenüber den Gruppen 1.3 und 1.4 bzw. 2.4 und 2.4.

Die Angaben über den Bedarf von wachsenden Puten an Vitamin B₂ weichen in den verschiedenen Literaturquellen stark voneinander ab. In diesem Versuch hatten die Riboflavin-Stufen einen klaren Einfluss auf die Körpergewichte, einen deutlichen Einfluss auf die Futteraufnahme, aber einen relativ geringen Einfluss auf die Futterverwertung. Eine Kenntnis des Bedarfs der Tiere und folglich eine optimale Gestaltung der Ration ist somit unumgänglich.

Ein deutlich erkennbarer Unterschied zwischen der Kontrollgruppe und den Stufen der am geringsten versorgten Vitamin B₂-Gruppen bestand ab Mitte der zweiten Lebenswoche. Diese Beobachtungen schließen auf eine kritische Phase in der Bedarfsdeckung mit Riboflavin ab einem gewissen Zeitpunkt in der Aufzucht. Nach dem Schlupf standen den Küken noch geringe Reserven aus dem Dottersack zur Verfügung, weshalb die ersten deutlichen Ausfallerscheinungen wohl auch erst ab Mitte der zweiten Lebenswoche auftraten, als diese Reserven verbraucht waren.

Die Empfehlung von 10 mg/kg Alleinfutter des Zuchtunternehmens (Aviagen Turkeys, 2019) kann man mit ausreichendem Sicherheitszuschlag verstehen. In der Praxis der Mischfutterherstellung werden oftmals die nativen Gehalte der Einzelfuttermittel nicht berücksichtigt. Vielmehr wird der Bedarf der Tiere vollständig über die Supplementierung mit geeigneten Vitamin B₂-reichen Produkten realisiert, da der Aufwand und das Risiko die schwankenden Gehalte der Rohstoffe zu bestimmen größer wäre, als von Grund auf die Futtermischungen mit Vitaminen durch kostengünstige Produkte anzureichern. Ein bedarfsgerecht ausreichender Wert liegt allerdings niedriger. Anhand der vorliegenden Daten und der fehlenden Unterschiede in der Futteraufnahme, sowie den Lebensgewichtssteigerungen der Varianten 1 - 5, kann davon ausgegangen werden, dass diese Varianten für die vorliegenden Haltungs- und Fütterungsbedingungen eine ausreichende Versorgung erfahren haben. Minimale Bewegungsauffälligkeiten, aber keine klinischen Auffälligkeiten bei den Tierverlusten oder Leistungsdaten zeichneten sich auch in den Varianten 1.5 und 2.5 ab. Folglich wäre eine mögliche Empfehlung für den Gehalt von Riboflavin im Alleinfutter für Puten in der Aufzuchtphase etwas über den Gehalten der Varianten 1.5 und 2.5 anzusetzen. Zur Verhinderung von Beinparalysen oder anderen zentralnervösen Störungen empfiehlt sich ein Minimalgehalt von 4 mg Riboflavin pro kg Alleinfutter für Mastputen schwerer Genetik in ihrer Aufzuchtphase. Zukünftig wird es

aufgrund des Wegfalls der Ausnahmeregelung für konventionelle Futtermittel in der ökologischen Tierhaltung notwendig sein, auf ökologisch konforme Vitaminergänzungsfuttermittel zurückzugreifen. Da diese jedoch mit mehr Aufwand erzeugt werden müssen, ist auch ein entsprechender Preisanstieg zu erwarten (bis zu 2,00 €/dt Alleinfuttermischung). Somit ist unter ökologischen Fütterungsbedingungen eine möglichst bedarfsgenaue Supplementierung unter Anrechnung der nativen Gehalte der Rohstoffe anzustreben.

Die energiegerichtete Futterraufnahme des Geflügels kann durchaus einige Mindergehalte in Futtermitteln kompensieren, aber offensichtlich nicht in größerem Ausmaß in der ersten Lebensphase von Truthähnen. Das geringe Futterraufnahmevermögen in der Aufzuchtphase reicht scheinbar nicht aus, um den Mangel durch höhere Futterraufnahme kompensieren zu können.

Durch den vergleichbaren Energiegehalt, aber verschiedene Gehalte an Rohprotein, bzw. essenziellen Aminosäuren in der Ration, konnte bestätigt werden, dass eine geringere Ausstattung des Futters mit Aminosäuren das Wachstum bremst. Infolgedessen wachsen die besser versorgten Tiere schneller, entwickeln ein größeres Futterraufnahmevermögen und nehmen somit wieder mehr Futter mit mehr Aminosäuren auf. Dies führte dazu, dass die Aminosäurenvariante 1 mit der besseren Ausstattung an Aminosäuren bessere Zunahmen realisieren konnte als die AS-Variante 2. Eine geringere AS-Zufuhr schwächt die Tiere und verzögert nicht nur ihr Wachstum. Sichtbar wird dies bei der Betrachtung der Verluste: Während die besser mit essenziellen Aminosäuren versorgten Tiere Verluste von 1,7 % zeigten, wiesen die Varianten mit geringerer Versorgung entsprechender Aminosäuren Verluste in Höhe von 4,9 % auf. Auch der Zustand des Gefieders war bei den schlechten versorgten Gruppen weniger gut. Dies zeigt, dass gerade in dieser kritischen und empfindlichen Phase der Aufzucht die optimale Versorgung für einen gesunden und leistungsbereiten Start in die Mast unabdingbar ist.

Ob die Tiere durch kompensatorisches Wachstum in der anschließenden Mastphase eine in der vorangegangenen Aufzuchtphase aufgetretene knappe Versorgung mit essenziellen Aminosäuren und Riboflavin ausgleichen können, bedarf weiterer Untersuchungen.

Vitamin B₂ stellt auch für das Geflügel ein essenzielles Vitamin dar. Dieses muss täglich mit der Nahrung in ausreichender Menge zugeführt werden. Dieser Versuch lieferte für die anspruchsvolle Aufzuchtphase von Putenküken Informationen zur Riboflavin-Versorgung unter ökologischen Bedingungen.

Die Riboflavin-Gehalte in ökologisch erzeugten Futtermitteln entsprechen nicht zwingend auch dem Tagesbedarf der Tiere. Folglich sind die rein nativen Gehalte in Futterrationen nicht ausreichend, um den Bedarf der Tiere an Vitamin B₂ zu decken. Selbst bei Verwendung von Futtermitteln mit natürlich hohen Gehalten an Riboflavin reicht der Gehalt in den Futtermischungen für eine bedarfsgerechte Versorgung nicht aus. Die Gehalte an Riboflavin in den Futtermitteln unterliegen außerdem großen Schwankungen. Somit ist eine Supplementierung erforderlich, um den Bedarf der Tiere sicherstellen zu können, die Leistung der Tiere zu gewährleisten und um Tierleid zu verhindern. Dies gilt in besonderem Maße für Alleinfuttermischungen für Jungtiere.

Durch diesen Versuch konnte unter ökologischen Bedingungen und restriktivem

Fütterungsregime bei abgesenktem AMEN-Gehalt der Alleinfuttermischungen für wachsende Puten schwerer Herkünfte eine Empfehlung von 4 mg/kg Alleinfutter Riboflavin abgeleitet werden. Es konnte bestätigt werden, dass das ökokonforme Fermentations-Trockenprodukt "EcoVit R" für eine ausreichende Versorgung über das Mischfutter geeignet ist und in der praktischen Mastputenernährung eingesetzt werden kann.

5.4 Legehennen

Unter den gegebenen Versuchsbedingungen konnten zwischen den drei Gruppen keine signifikanten Unterschiede in den relevanten biologischen Leistungsparametern festgestellt werden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen allerdings zwei wesentliche Punkte berücksichtigt werden:

- Der Versuch wurde während der Vegetationszeit auf einer bis dato nicht von Legehennen genutzten Grünlandfläche durchgeführt. Es war somit – zumindest für die erste Hälfte des Versuchszeitraums – reichlich hochwertiger Aufwuchs vorhanden, der zusätzlich von den Tieren aufgenommen werden konnte. Die Riboflavin-Gehalte der Aufwuchsproben erreichten dabei Werte von bis knapp 20 mg/kg TM. Die tägliche Aufnahme von 5 % dieses hochwertigen Grünfutters aus dem Auslauf erhöht rein rechnerisch die Riboflavin-Konzentration im Legemehl um ca. 1 mg/kg!
- Riboflavin kann relativ gut in der Leber eingelagert werden. Zwar wurde der Aufwuchs im Auslauf aller Varianten nach der 4. Versuchswoche mit einem Rasenmäher zurück gemäht, um das Angebot für die Tiere zu verknappen und „Schwarzauslauf-Bedingungen“ zu simulieren. Möglicherweise reichte der restliche Versuchszeitraum von drei Wochen aber nicht aus, um die Speicher der Tiere vollständig zu entleeren und zumindest bei der LM 2,0-Gruppe einen Leistungsrückgang zu provozieren.

In dem vorliegenden Versuch konnten keine leistungssteigernden Effekte durch eine zusätzliche Vitamin B₂-Zulage in Form des Fermentations-Trockenproduktes EcoVit R der Firma Agrano nachgewiesen werden. Die nativen Gehalte an Riboflavin in den eingesetzten Rohstoffen schienen - in Verbindung mit der teils sehr intensiven Nutzung des Auslaufs - ausreichend gewesen zu sein. Die Nutzung der Ausläufe ließ keinen gerichteten Effekt hinsichtlich Riboflavin-Konzentration des Legemehls erkennen. Weitergehende Untersuchungen zur Versorgungssituation unter „Schwarzauslauf-Bedingungen“ bzw. über einen längeren Zeitraum, vorzugsweise in den Wintermonaten November bis März, wären für eine abschließende Bewertung hilfreich.

6. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertung der Ergebnisse

Die Agrano GmbH & Co. KG ist als Futtermittelunternehmen (Einzelfuttermittel) registriert. Die zuständige Überwachungsbehörde ist das Regierungspräsidium (RP) Freiburg. Das Fermentationsprodukt aus *Ashbya gossypii* (EcoVit R) wurde vom RP Freiburg als Einzelfuttermittel eingestuft. Unter Berücksichtigung der durchgeführten Fütterungsversuche, dem Herstellungsprozess, der Inaktivierung von *Ashbya gossypii* im Endprodukt und dem hohen Maß an Qualitätskontrolle, wurde das Fermentationsprodukt vom RP Freiburg als sicher für die Verfütterung eingestuft.

Da ein vergleichbares Einzelfuttermittel weder im Katalog der Einzelfuttermittel (VO (EU) Nr. 68/2013), noch im Einzelfuttermittelregister der EU (<https://feedmaterialsregister.eu/>) eingetragen war musste eine Eintragung des neu entwickelten Riboflavin-reichen Einzelfuttermittels erfolgen. Die Eintragung in das Feed Materials Register erfolgte am 19.03.2019 unter dem Namen „Fermentation product with *Ashbya gossypii*“ mit der ID-Nummer 008290-EN.

Durch die Agrano GmbH & Co. KG wurden erfolgreich mehrere Produktionen von EcoVit R durchgeführt. Die Suspension konnte zu einem trockenen pulverförmigen Produkt veredelt und an Kunden vertrieben werden.

Es wurde eine alternative Quelle für Vitamin B₂ zum Einsatz im ökologischen Landbau entwickelt. EcoVit R ist Bio-Zertifiziert und entspricht den Anforderungen über den ökologischen Landbau VO (EG) 834/2007, sowie VO (EG) 1829/2003 und VO (EG) 1830/2003.

Im Register der Futtermittelzusatzstoffe der Europäischen Union, sowie in der Durchführungsverordnung (VO (EU) 2019/901), sind als Vitamin B₂-Zusatzstoffe für Futtermittel nur die Produkte Vitamin B₂ aus *Bacillus subtilis* DSM 17339/DSM 23984 und Vitamin B₂ aus *Ashbya gossypii* DSM 23096 zugelassen. Beide Produkte werden mit gentechnisch veränderten Mikroorganismenstämmen hergestellt. Aufgrund des GVO-Ursprungs dieser aufgereinigten Vitamin B₂ Präparate sollten sie nicht in der Fütterung von ökologischem Geflügel eingesetzt werden. Eine Mindestkonzentration an Riboflavin von 2,5-4,0 mg/kg sollte in den Futtermischungen in Abhängigkeit der Geflügelart bzw. des Tieralters jedoch vorhanden sein. Die Konzentration an Riboflavin im Mischfutter ist von den eingesetzten Rohstoffen/Einzelfuttermitteln und deren natürlichen Vitamingehalt abhängig. Um einer Unterversorgung mit Vitamin B₂ vorzubeugen sollten daher Einzelfuttermittel mit hohen Riboflavin-Gehalten eingesetzt werden. Bierhefe gilt mit einem recht hohen Riboflavin-Gehalt mit über 20 mg/kg als eine mögliche Futterkomponente zum Ausgleich Riboflavin-armer Futtermittelkomponenten. Jedoch ist auch diese Konzentration noch zu niedrig, um eine ausreichende Bedarfsdeckung beim Geflügel zu erreichen. Dies ist vor allem dann problematisch, wenn aufgrund mangelnder Marktverfügbarkeit keine Bio-Hefe eingesetzt wird. Entsprechend gilt dies auch für andere in Frage kommende Riboflavin-reiche Futtermittelkomponenten wie Magermilchpulver, Casein oder Grünmehl. Das in diesem Projekt entwickelte Bio-Einzelfuttermittel besitzt eine Riboflavin-Konzentration von ca. 500 mg/kg in der flüssigen Form und ca. 6000 mg/kg in der getrockneten Form und müsste nur zu 1 % bzw. 0,1 % zum Bio-Mischfutter zugegeben

werden. Vergleichbare öko-konforme und bio-zertifizierte Einzelfuttermittel, die eine ausreichende Vitaminisierung in Bio-Futter bewirken können, sind am Markt derzeit nicht bekannt. Aus den genannten Gründen stellt das entwickelte Produkt EcoVit R daher einen hohen Nutzen für die ökologische Geflügelhaltung dar.

7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

7.1 Projektteil Agrano GmbH & Co. KG

Die ursprünglich geplanten Ziele wurden erreicht. Durch die Fermentation von Bio-Rohstoffen mit dem Hefe-Pilz *Ashbya gossypii* konnte ein Riboflavin-reiches bio-zertifiziertes Einzelfuttermittel entwickelt werden. Der Herstellungsprozess wurde bis auf den Produktionsmaßstab übertragen. Die angestrebte Mindestkonzentration an Riboflavin von 200 mg/kg im Produkt wurde erzielt und mit Durchschnittskonzentrationen von 500 mg/kg übertroffen. Es wurden sowohl Lagertests des Einzelfuttermittels selbst als auch von Futtermischungen dessen durchgeführt.

Die Akzeptanz des Einzelfuttermittels, sowie die Wirksamkeit des enthaltenen natürlichen Riboflavins wurden in Fütterungsversuchen an Geflügel belegt. Die flüssige Fermentersuspension konnte zu einem pulverförmigen Trockenprodukt veredelt werden.

7.2 Projektteil FiBL Deutschland e.V.

7.2.1 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Ziel der Fütterungsversuche war es, das durch die Fermentation von Bio-Rohstoffen mit dem Hefe-Pilz *Ashbya gossypii* entwickelte Riboflavin-reiche Einzelfuttermittel bei den am stärksten von Symptomen des Riboflavin-Mangels betroffenen Geflügelkategorien, nämlich Masttiere (Masthühner, Mastputen) und Elterntiere (bzw. indirekt Embryonen) sowie Legehennen zu evaluieren. Die Äquivalenz des Produktes zu dem bisher eingesetzten sollte überprüft werden, indem identische Riboflavin-Konzentrationen angesetzt wurden. Durch weitere Vergleichsfutter mit abgestuften Konzentrationen des Riboflavin-Produktes wurde ermittelt, ob es bei niedrigerer Dosierung unter Bedingungen des ökologischen Landbaus Mangelsymptome gibt. Damit war neben der Evaluierung des Produktes auch ein Wissenszuwachs im Sinne einer Aktualisierung von wissenschaftlichen Daten zum Riboflavin-Bedarf im ökologischen Landbau zu erwarten.

Die Ziele konnten mit den durchgeführten Fütterungsversuchen bei Masthühnern, Masthühner-Elterntieren, Mastputen und Legehennen vollumfänglich erreicht werden, indem:

- ein Verfahren zur Produktion eines ökologischen stark Riboflavin-haltigen Einzelfuttermittels auf Basis der Fermentation mit dem Hefe-Pilz *Ashbya gossypii*

entwickelt wurde, das den ökologischen Landbau von der Supplementierung mit konventionellen Produkten, die auf der Verwendung von gentechnisch modifizierten Mikroorganismen basieren, unabhängig macht;

- die Effizienz des entwickelten Produktes in flüssiger Form als Fermentations-Suspension und in fester Form als Fermentations-Trockenprodukt bei Masthühnern nachgewiesen wurde. Bei nicht ausreichender Riboflavin-Versorgung zeigten die Tiere Mangelsymptome, bei Supplementierung mit dem Produkt konnten diese vermieden werden;
- die Supplementierung des entwickelten Produktes in unterschiedlicher Dosierung bei Masthühnern untersucht wurde und sich insbesondere in den späteren Mastabschnitten Möglichkeiten gezeigt haben die Riboflavin-Supplementierung zu reduzieren. Dies ermöglicht einen ökonomischen Einsatz des Produktes und trägt zur Wirtschaftlichkeit der ökologischen Geflügelhaltung bei;
- an Masthühner-Elterntieren die Einsatzmöglichkeit des entwickelten Produktes für eine ausreichende Riboflavin-Versorgung bei der Erzeugung von Bruteiern gezeigt wurde;
- bei Mastputen die Wirksamkeit des entwickelten Trockenproduktes nachgewiesen wurde. Ähnlich wie bei Masthühnern konnte nur mit Hilfe der Supplementierung über das Fermentations-Trockenprodukt eine Riboflavin-Mangel verhindert werden;
- sich bei Legehennen die Einsatzmöglichkeit des Fermentations-Trockenproduktes zeigte.

Zusammenfassend wurde erfolgreich ein Produkt auf Basis der *A. gossypii*-Fermentation entwickelt, welches sich für den Einsatz in der Geflügelernährung eignet und eine ausreichende Riboflavin-Versorgung sicherstellen kann.

7.3 Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Eine bedarfsdeckende Versorgung von unter ökologischen Bedingungen gehaltenem Geflügel mit ausschließlich natürlichen Vitamin-B₂-Gehalten der Einzelfutterkomponenten ist nur sehr bedingt möglich. Vor allem in den ersten Lebenswochen von Masttieren ist eine Riboflavin-Supplementierung notwendig wie die Untersuchungen bei Masthühnern und Mastputen gezeigt haben. Weiterführenden Untersuchungen sind notwendig, um wichtige Einflussfaktoren auf den Riboflavin-Gehalt zu bestimmen. Bedarfswerte wurden bislang nicht auf die besonderen Produktionsbedingungen des Öko-Landbaus angepasst. Als wichtiger Einflussfaktor ist hier die Genetik zu nennen. Vergleich zwischen langsam und schnell wachsenden Genotypen fehlen. Ebenso sind die Zusammenhänge zwischen den verwendeten Genetiken und der Fütterungsstrategie in Bezug auf den Riboflavin-Bedarf noch nicht untersucht. Als weiterer Indikator für eine Mangelversorgung bietet sich in weiteren Studien der Riboflavin-Gehalt in Organen, z.B. der Leber an.

Bei Elterntieren konnten die durchgeführten Untersuchungen noch nicht eingehend klären, inwieweit sich die Riboflavin-Versorgung der Elterntiere auf die Riboflavin-Gehalte im Ei

und damit auf die embryonale Sterblichkeit und Schlupffähigkeit auswirken. Unklar ist darüber hinaus, ob eine weit über den Bedarf hinausgehende Riboflavin-Versorgung der Elterntiere und eine damit möglicherweise induzierte Steigerung des Riboflavin-Gehaltes im Ei eine Mangelversorgung der Küken in den ersten Lebenstagen ausgleichen kann.

Eine zentrale Fragestellung für weitere Untersuchungen bei Legehennen ist, inwieweit über eine Aufnahme von Grünfutter im Auslauf der Riboflavin-Bedarf gedeckt werden kann. Dies ist insbesondere für die Wintermonate von Bedeutung.

8. Zusammenfassung

8.1 Projektteil Agrano GmbH & Co. KG

Die Zielstellung ein ökokonformes Einzelfuttermittel mit einem hohen Gehalt an Riboflavin zu produzieren wurde erfüllt. So konnte der geeignete Hefestamm *Ashbya gossypii* identifiziert werden, mit dem auf Substraten des Bio-Landbaus eine Fermentation erfolgen kann, die eine bio-zertifizierte Vitamin B₂ reiche Hefebiomasse erzeugt. Der Produktionsprozess konnte vom Labormaßstab bis zum 30.000 Liter Produktionsmaßstab übertragen werden. Der angezielte Mindestgehalt von 200 mg Vit.B₂/kg Suspension konnte mit Konzentrationen von 500-600 mg/kg übertroffen werden. Das entstandene flüssige Produkt EcoVit R konnte erfolgreich in Bio-Mischfutter für Geflügel eingemischt werden. Dadurch wurde der Gehalt an Vitamin B₂ im Geflügelfutter erhöht und auf definierte Mindestgehalte eingestellt. Die Konzentration an Riboflavin war auch nach 10 Monaten Lagerung im Mischfutter stabil geblieben. Um die EcoVit R Suspension zu stabilisieren kann diese mit Ameisensäure versetzt werden. Damit ist die Suspension bei Temperaturen von 22 °C für mindestens drei Monate haltbar. Da der Einsatz einer Flüssigkeit in Futtermühlen nach Rücksprache mit Interessenvertretern und Mischfutterherstellern nur schwer durchführbar ist wurde in Versuchen Trocknungsmethoden evaluiert, um ein pulverförmiges Produkt anbieten zu können. Dabei stellte sich die Walzentrocknung als Methode der Wahl heraus. Das Pulver zeigte nach 7 Monaten Lagerung bei 30 °C weder Veränderungen der Sensorik, der mikrobiologischen Beschaffenheit oder der Futtermittelwerte.

Die flüssige Variante, sowie das EcoVit R Pulver, wurden von der für die Agrano GmbH & Co. KG verantwortlichen Futtermittelüberwachungsbehörde, dem Regierungspräsidium Freiburg, als ein sicher für die Verfütterung eingestuftes Einzelfuttermittel bewertet.

Im Zuge der Eintragung von EcoVit R im europäischen Futtermittelregister unter der Bezeichnung „Fermentation product with *Ashbya gossypii*“ mit der ID-Nummer 008290-EN, wurde das Produkt vom ständigen Ausschuss für Futtermittel der EU (SCoPAFF-Animal Nutrition) diskutiert. Aufgrund des Vitamin B₂ Charakters von EcoVit R wurde von Teilen der Kommission zum einen angenommen, dass es sich um ein Futtermittelzusatzstoff handeln könnte. Aufgrund der Tatsache, dass EcoVit R eine komplexe Nährstoffzusammensetzung aus Protein, Fett, Kohlenhydraten Mineralstoffen und natürlichem Vitamin B₂ besitzt und zudem der Gehalt an Riboflavin im Produkt nicht eingestellt wird und natürlichen Schwankungen unterliegt wurde zum anderen eine Einstufung als Einzelfuttermittel vorgeschlagen. Der Ausschuss konnte sich bis zur Abgabe

dieses Endberichtes nicht auf eine einheitliche Produktklassifikation als Einzelfuttermittel oder Futtermittelzusatzstoff einigen.

8.2 Projektteil FiBL Deutschland e.V.

Gegenstand des Forschungsvorhabens war die Entwicklung eines Verfahrens zur Produktion eines ökologischen stark Riboflavin-haltigen Einzelfuttermittels, das den ökologischen Landbau von der Supplementierung mit konventionellen Produkten, die auf der Verwendung von gentechnisch modifizierten Mikroorganismen basieren, unabhängig macht. Das auf Basis der Fermentation des Hefe-Pilzes *Ashbya gossypii* entwickelte Produkt wurde in flüssiger Form als Fermentations-Suspension an Masthühnern und Masthühner-Elterntieren und als Fermentations-Trockenprodukt an Masthühnern, Mastputen und Legehennen untersucht. Die Futtermischungen wurden nach den Richtlinien der EG-Öko-Verordnung hergestellt.

In **Versuch 1** wurden in zwei Durchgängen insgesamt 1600 gemischtgeschlechtliche Eintagsküken der Genetik Ranger Gold™ (Aviagen Epi GmbH, Cuxhaven, Germany) unter Bodenhaltungsbedingungen gehalten. Die Tiere wurden zufällig auf 40 Gruppen mit je 20 Tieren aufgeteilt. Vom 1. bis zum 28. Lebensstag wurde Starterfutter und danach bis zur Schlachtung an Tag 62/63 ein Mastfutter verabreicht. Vier Versuchsmischungen (10 Abteile je Variante) wurden getestet: eine Grundmischung 1) ohne Supplementierung von Riboflavin und ausschließlich nativem Riboflavin der Futterkomponenten (NATIV), 2) mit Riboflavin-Supplementierung einer konventionellen Quelle (9,6 mg/kg im Starter- und 8,0 mg/kg im Mastfutter; Cuxavit B2 80%, Kaesler Nutrition GmbH, Cuxhaven, Deutschland) (KONV), 3) mit Riboflavin-Supplementierung der Fermentations-Suspension (Riboflavin-Gehalt: 741,0 mg/kg) in niedriger Dosierung (3,5 mg/kg) (A-NIEDRIG) und 4) hoher Dosierung (9,6 mg/kg im Starter- und 8,0 mg/kg im Mastfutter (A-HOCH)). Das Körpergewicht in der Gruppe A-HOCH (2299 g) war höher als das der Gruppen NATIV (2173 g) und A-NIEDRIG (2150 g) ($P < 0,05$). Beide Gruppen mit der hohen Riboflavin-Supplementierung zeigten einen höheren Futterverbrauch als die Gruppen NATIV und A-NIEDRIG ($P < 0,05$), wobei sich die Futtermittelnutzung nicht unterschied ($P > 0,05$). Der Brustfleischanteil der NATIV- und KONV-Tiere lag höher als der A-NIEDRIG-Tiere ($P < 0,05$), unterschied sich aber nicht zu A-HOCH ($P > 0,05$). Er lag mit 22,9 bis 23,7% bei allen Gruppen auf einem niedrigen Niveau. Die Anteile von Schenkel und Flügel unterschieden sich nicht ($P > 0,05$). KONV und A-NIEDRIG zeigten im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen einen höheren Leberanteil ($P < 0,05$). Der höchste Anteil an Lebern, die Score 2 und damit ein Anzeichen von Verfettung zeigten, wurde in der Gruppe KONV gefunden ($P < 0,01$). Stark ausgeprägte Fußballendermatitis wurde in keiner der Gruppen gefunden, auch bedingt durch eine geringere als in der Praxis übliche Besatzdichte.

In **Versuch 2** wurden zwei Durchgänge mit jeweils 800 gemischtgeschlechtliche Eintagsküken des Genotyps Ranger Gold™ (Aviagen Epi GmbH, Cuxhaven, Deutschland) unter vergleichbaren Studienbedingungen wie in Versuch 1 aber mit unterschiedlichen Alleinfuttermischungen durchgeführt. Die achtwöchige Mast wurde in drei Fütterungsphasen gegliedert: In den ersten zwei Wochen erhielten die Tiere Starterfutter, in den folgenden vier Wochen wurde den Masthühnern das Aufzuchtfutter 1 und in den letzten zwei Wochen vor der Schlachtung das Aufzuchtfutter 2 angeboten. Neben einer

Grundmischung ohne Supplementierung (NATIV) des Trockenproduktes wurde dieses in drei unterschiedlichen Dosierungen supplementiert. Die NATIV-Variante wies einen Gehalt von 2,86; 3,05 und 2,83 mg/kg im Start-, Aufzucht 1 und Aufzucht 2-Futter auf. In der NIEDRIG-Variante waren es 4,73; 4,43 bzw. 4,64 mg/kg, in der MITTEL-Variante 6,71; 6,95 bzw. 6,70 mg/kg und in der HOCH-Variante waren 9,22; 8,10 und 8,77 mg/kg im Starter-, Aufzucht 1- und Aufzucht 2-Futter. Die Tiere der NATIV-Gruppe zeigten in der zweiten Lebenswoche Symptome einer unzureichenden Riboflavin-Versorgung. Beim Auftreten der ersten Verhaltensauffälligkeiten (Bewegungsstörungen, Lahmheit, Laufen auf Gelenken) wurden 6 Küken (3 männliche und 3 weibliche) am 12. Lebenstag zur Untersuchung durch den Geflügelgesundheitsdienst (Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., Poing) gesandt. Bei gutem Ernährungszustand und keinen weiteren festgestellten Organbefunden, wurden gering- bis mittelgradige subakute Degenerationen der Ischiasnerven festgestellt, die den Verdacht auf einen Mangel an Riboflavin unterstützten. Infolgedessen wurde das Futter dieser Gruppe daher ab diesem Zeitpunkt auf einen Riboflavin-Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht (Mischung aus den vier Versuchsgruppen). Bei der Wiegung in der zweiten Lebenswoche, also bevor der Riboflavin-Gehalt der NATIV-Gruppe aufgewertet wurde, wiesen die NATIV-Tiere mit 254 g ein geringeres Körpergewicht auf als die der anderen drei Versuchsgruppen mit höheren Riboflavin-Gehalten (NIEDRIG = 278 g; MITTEL = 271 g; HOCH = 274 g; $P < 0,05$). In Woche 3, also eine Woche, nachdem das Futter der NATIV-Gruppe im Riboflavin-Gehalt erhöht wurde, unterschieden sich nur die NATIV-Gruppe (485 g) von der NIEDRIG-Gruppe (518 g) ($P < 0,05$), nicht aber von den beiden anderen Gruppen (504 g; $P > 0,05$). Während der folgenden Lebenswochen gab es keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen mehr ($P > 0,05$). Das Mastendgewicht belief sich auf 2518 g (NATIV), 2610 g (NIEDRIG), 2585 g (MITTEL) bzw. 2587 g (HOCH) ohne Unterschiede zwischen den Gruppen ($P > 0,05$). Über den Versuchszeitraum lag der Futterverbrauch ohne Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen bei 5218 bis 5412 g je Tier ($P > 0,05$). Die Mortalität über die gesamte Versuchsperiode hinweg lag in der Gruppe NATIV mit 4,5 % höher als in den Gruppen NIEDRIG und HOCH (2,5 %) bzw. MITTEL (1,5 %). Die Sterblichkeit in den ersten 7 Lebenstagen lag dabei in allen Gruppen unter einem Prozent. Tiere der MITTEL- und NATIV-Gruppe zeigten eine höhere Ausschlachtung als Tiere der NIEDRIG-Gruppe. Brust- und Schenkelanteil unterschieden sich dagegen nicht zwischen den Gruppen ($P > 0,05$), während der Flügelanteil der NATIV-Tiere höher war als der der NIEDRIG- und HOCH-Gruppen ($P < 0,05$). Der Anteil des Abdominalfettes wiederum war in der NATIV-Gruppe niedriger als bei den NIEDRIG- und HOCH-Masthühnern ($P < 0,05$). Der Leber- ebenso wie der Herzanteil lag bei NATIV- und NIEDRIG-Tieren über denen der beiden anderen Gruppen ($P < 0,05$). Der Anteil des Leberscores 2 war in der Gruppe NIEDRIG am höchsten und der Anteil unauffälliger Lebern (Score 0) am niedrigsten. Der Anteil des Muskelmagens war bei den NATIV-Tiere höher als bei NIEDRIG- und bei diesen wiederum niedriger als bei den MITTEL-Tieren ($P < 0,05$). Für Fußballendermatitis zeigten sich keine Gruppenunterschiede ($P > 0,05$), wobei lediglich in einer Gruppe überhaupt Veränderungen der Fußballen beobachtet wurden.

Im zweiten Durchgang des **Versuches 2** wurden in einem identischen Studiendesign die beiden Starterfutter NIEDRIG und MITTEL aus dem ersten Durchgang dieses Versuches verwendet. Bei Versuchsstart wurden diese erneut auf ihren Riboflavin-Gehalt untersucht

und wiesen einen Gehalt von 4,00 bzw. 5,64 mg/kg auf. Er lag damit unter den Werten, die nach der Futterherstellung für den ersten Durchgang ermittelt wurden. In den darauffolgenden Mastabschnitten wurden jeweils zwei Mischungen für das Aufzuchtfutter 1 und 2 hergestellt, die sich im Riboflavin-Gehalt unterschieden. Diese wurden jeweils zur Hälfte an Tiere verfüttert, die in der Starterphase das Futter mit niedriger Riboflavin-Dosierung erhalten hatten und zur anderen Hälfte an Tiere, die das Futter mit der höheren Dosierung bekommen hatten. Im Aufzuchtfutter 1 lagen diese im Mittel bei 4,5 mg/kg in der niedrigen Dosierung und 6,2 mg/kg in der hohen Dosierung. Beim Aufzuchtfutter 2 waren es 3,6 bzw. 4,7 mg/kg in der niedrigen und hohen Dosierung. Mangelsymptome traten während der gesamten Versuchsdauer nicht auf. Im gesamten Mastverlauf zeigten sich innerhalb der einzelnen Wochen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Lebendgewichten der Tiere der verschiedenen Futtervarianten ($P > 0,05$). Das Lebendgewicht der D-HOCH Gruppe lag nach der letzten Mastwoche im Durchschnitt bei 2426 g. Darauf folgten die Tiere der Varianten C-HOCH, A-NIEDRIG und B-NIEDRIG mit durchschnittlichen Lebendgewichten von 2358 g, 2341 g und 2316 g. Die Mortalität entlang des gesamten Mastverlaufs der jeweiligen Gruppen lag bei 0,5 % (A-NIEDRIG, B-NIEDRIG) bzw. 1,5 % (C-HOCH, D-HOCH). Bis zum 7. Tag waren Sterblichkeiten von 0,5 % für die Gruppen A-NIEDRIG, B-NIEDRIG und C-HOCH zu dokumentieren, sowie 1,0 % für die Gruppe D-HOCH. Zum Mastende betrug die Futterverwertung in kg Futter/kg Zuwachs 2,42 (D-HOCH), 2,54 (A-NIEDRIG), 2,56 (C-HOCH) und 2,69 (B-NIEDRIG) ($P > 0,05$). Mit einer Ausschachtung von 73,9 % lag die D-HOCH-Gruppe über den Werten von 72,7 % (B-NIEDRIG), 72,5 % (C-HOCH) und 71,9 % (A-NIEDRIG) ($P > 0,05$). Bezüglich der Leberfarbe, Fußballendermatitis und Gefiederverschmutzung waren keine statistischen Unterschiede festzustellen ($P > 0,05$).

Angelehnt an den ersten Durchgang des Versuches 2 wurde das Fermentations-Trockenprodukt unter Praxisbedingungen auf einem Bio-Betrieb an Masthähnchen untersucht (**Versuch 3**). Insgesamt 435 Eintagsküken der Linie Hubbard (früher ISA) JA-757 wurden auf 4 Versuchsgruppen aufgeteilt und über eine Mastperiode von 8 Wochen unter aufgezogen. In den ersten 4 Wochen wurden die Tiere in vier Abteilen in einem Feststall unter Bodenhaltungsbedingungen gehalten, danach in einen Mobilstall. Es wurden die Futtermischungen NATIV, NIEDRIG, MITTEL und HOCH des ersten Durchganges aus Versuch 2 verfüttert. Auf Basis der klinischen Symptome des Riboflavin-Mangels aus Versuch 2, wurde in der zweiten Lebenswoche die NATIV-Futtermischung auf einen Riboflavin-Gehalt von 5,88 mg/kg erhöht (Mischung aus den vier Versuchsgruppen). Nach 14 Tagen wiesen 2 Tiere der NATIV-Gruppe Lähmungserscheinungen ('curled toe paralysis') auf. In der zweiten Lebenswoche wiesen Tiere der HOCH-Gruppe im Vergleich zu den MITTEL-Tieren geringere Lebendgewichte auf ($P < 0,05$). Nach der Aufwertung des Riboflavin-Gehaltes der NATIV-Gruppe zeigten diese Tiere in der fünften Lebenswoche ein zu den MITTEL-Tieren vergleichbares Gewicht auf, während beide andere Gruppen niedriger lagen ($P < 0,05$). Am Ende des Versuches nach 8 Wochen gab es keine Unterschiede zwischen den vier Versuchsgruppen mehr ($P > 0,05$). Die Futterverwertung war mit 2,16 bzw. 2,12 kg Futter je kg Gewichtszuwachs in den Gruppen NATIV und NIEDRIG schlechter als in den Gruppen MITTEL (1,90) und HOCH (1,94). Die Ausschachtung unterschied sich nicht zwischen den Gruppen ($P > 0,05$). Ein stark verschmutztes Gefieder

wurde bei 12 % und ein mittelgradig verschmutztes Gefieder bei 64 % der Tiere der NATIV-Gruppe gefunden. In den anderen Gruppen war der Anteil verschmutzter Tiere niedriger.

In **Versuch 4** wurden insgesamt 140 Elterntiere des Genotyps ISA JA 757 auf einem Öko-Betrieb in zwei Festställen (Ställe 1 und 2; jeweils 40 Legehennen) und zwei Mobilställen (Ställe 3 und 4; jeweils 30 Legehennen) unter Bedingungen der ökologischen Freilandhaltung gehalten. In jeder Tiergruppe befand sich ein Hahn der Rasse Bresse Gauloise. Der Versuch wurde als lateinisches Quadrat (4 x 4) mit vier Alleinfuttermischungen, die jeder Tiergruppe einmal während vier Versuchsphasen gefüttert wurde, durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Einstallung waren die Tiere in der 18. Lebenswoche, der Versuch startete in der 27. Lebenswoche nach Stabilisierung der Legeleistung. Jede Versuchsphase dauerte 8 bis 10 Wochen. Auf Basis der Grundmischung wurden vier Alleinfuttermischungen hergestellt: eine Grundmischung 1) ohne Supplementierung von Riboflavin und ausschließlich nativem Riboflavin der Futterkomponenten (NATIV), 2) mit Riboflavin-Supplementierung einer konventionellen Quelle (10,0 mg/kg Futter; Cuxavit B2 80%, Kaesler Nutrition GmbH, Cuxhaven, Deutschland) (KONV), 3) mit Riboflavin-Supplementierung der alternativen Fermentations-Suspension in niedriger Dosierung (3,5 mg/kg Futter) (A-NIEDRIG) und 4) hoher Dosierung (10,0 mg/kg Futter) (A-HOCH). Die Legeleistung wurde täglich erfasst und monatlich wurden 10 zufällig ausgewählte Tiere aus jeder Versuchsgruppe gewogen. Der Riboflavin-Gehalt in den Eiern wurde an 5 Eiern je Versuchsmischung und Versuchsphase mit der oben beschriebenen Methode bestimmt. Bis auf die erste Versuchsphase wurden alle Eier, die an zwei aufeinanderfolgenden Tagen gesammelt wurden, gewogen und deren Albumen-, Dotter- und Schalengewicht bestimmt. In jeder Versuchsphase wurden je Versuchsgruppe 200 bis 240 Eier bebrütet. Die Legeleistung variierte in Abhängigkeit der Fütterungsvariante über die gesamte Versuchsperiode zwischen 72,6 % (A-NIEDRIG) und 75,9 % (NATIV), wobei zwischen den Fütterungsvarianten kein Unterschied abgesichert werden konnte ($P = 0,48$). Hierbei ist zu berücksichtigen, dass sich der hier betrachtete Versuchszeitraum auf die LW 27 bis 62 ausdehnte. Auch bezüglich des Eigewichtes gab es mit einem mittleren Gewicht von 58,5 g keinen Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen ($P > 0,05$). Ein Unterschied zwischen den Varianten im Riboflavin-Gehalt im Ei konnte nicht abgesichert werden ($P = 0,59$). Hinsichtlich des Hennengewichtes wiesen die A-NIEDRIG-Tiere im Vergleich zu denen der Variante NATIV ein geringeres Lebendgewicht auf. Der Futterverbrauch schwankte zwischen 91 (A-HOCH) und 106 (KONV) g je Henne und Tag. Bezogen auf ein kg Eimasse schwankte der Futterverbrauch zwischen 2,41 kg/kg Eimasse bei NATIV-Tieren und 2,10 kg/kg Eimasse bei A-HOCH-Tieren. Die A-HOCH-Gruppe zeigte höhere Eigewichte als die A-NIEDRIG, während beide andere Gruppe dazwischen lagen ($P < 0,05$). Der Schalenanteil war in der A-HOCH-Gruppe niedriger als in der KONV-Gruppe ($P < 0,05$); zu den beiden anderen Gruppen gab es keine Unterschiede ($P > 0,05$). In Bezug auf die Eidotter- und Albumen-Anteile ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ($P > 0,05$). Ebenso zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Riboflavin-Gehalt in den Eiern ($P > 0,05$). In allen drei Versuchsgruppen, für die die Befruchtungsrate in der ersten Versuchsphase erhoben werden konnte, lag sie über 90%. In der zweiten Versuchsphase zeigten sowohl die Gruppe NATIV als auch KONV bei einer Befruchtungsrate von 70%, während es in der Gruppe A-HOCH 80% und in der Gruppe A-NIEDRIG mehr als 95% waren. Die entsprechende

Befruchtungsrate variierte zwischen 60% in NATIV und KONV und mehr als 90% in beiden Gruppen mit der Riboflavin-Supplementierung der alternativen Quelle. Die Befruchtungsrate in der dritten Versuchsphase lag zwischen 50% (NATIV) und mehr als 90% (KONV), während die Schlupfrate über 85% in allen Gruppen lag.

Der Aufzuchtversuch mit Mastputen (**Versuch 5**) wurde mit Hähnen des Genotyps "B.U.T. 6" (Aviagen) durchgeführt. In die Betrachtung sind die ersten 4 Lebenswochen eingeflossen. Bei abgesenktem Energiegehalt wurden zwei verschiedene Aminosäurestufen und sechs unterschiedlichen Gehaltsstufen von Riboflavin in den Rationen wurden die Werte für Futterverbrauch, Gewichtsentwicklung und Mortalität erhoben. Die Versuchsdurchführung erfolgte zum einen in der Versuchsstation des Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum für Geflügel- und Kleintierhaltung in Kitzingen und der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf in einem Versuchsstall in Zornhausen bei Freising. Pro Standort wurden zwei Wiederholungen vorgenommen, somit beinhaltete das Versuchsdesign 24 Boxen pro Standort und insgesamt vier Wiederholungen pro Behandlung. Das ergab 288 Tiere pro Standort und 576 Tiere insgesamt. An jeder Station wurden 12 Tiere pro Box eingestallt. Ausgehend von den Versorgungsempfehlungen des Zuchtunternehmens Aviagen, wurden die folgenden Anpassungen vorgenommen: Anstatt von 12,3 MJ ME/kg wurden nur 11,0 MJ ME/kg Alleinfuttermischung, also 90 % der Empfehlung, angestrebt. Entsprechend hierzu wurde auch die Ausstattung für Vitamin B₂ und weiteren relevanten Inhaltsstoffen zurückgenommen. Die Mischungen basierten weiterhin auf zwei unterschiedlichen Aminosäure-Stufen. Die Stufe 1 wurde den Empfehlungen von Aviagen entsprechend mit 5,3 g pro MJ ME für Methionin eingerichtet. Daraus resultiert ein Gehalt von 5,8 g/kg Alleinfutter. Variante 2 entsprach nur noch 90 % dieses Wertes und wurde somit auf 5,1 g/kg Alleinfutter abgesenkt. Als weiteren Faktor wurden sechs verschiedene Versorgungsstufen von Riboflavin angelegt. Diese sollten in 10 %-Schritten bis auf ein Niveau von 50% der Versorgungsempfehlung reduziert werden. Dies geschah für beide Aminosäurestufen ihren Gehalten entsprechend gleich. Somit wurde eine Spanne von 8,9 mg bis 4,0 mg Vitamin B₂ pro kg Alleinfuttermischung abgedeckt. Bei der Ausstattung der Versuchsmischungen wurde der jeweilige native Gehalt der Rohstoffe berücksichtigt. Die Aufdosierung erfolgte mit dem Fermentations-Trockenprodukt aus der *A. gossypii*-Fermentation. Die tatsächlich erreichten Werte wichen von den angestrebten Zielwerten ab. Der Zielwert für den Energiegehalt lag zwischen 11,5 MJ ME/kg und 11,9 MJ ME/kg. Die berechneten Methioningehalte von 5,8 g/kg für die AS-Stufe 1, bzw. 5,1 g/kg für die AS-Stufe 2 wurden unterschritten. Auch die Riboflavin-Gehalte waren in den Futtermischungen verringert und schwankten zwischen 2,3 und 7,5 mg/kg. Ähnlich wie in Versuch 2 bei Masthühnern, wurden auch bei den Puten in den Futtermischungen mit den niedrigsten Riboflavin-Gehalten Mangelsymptome beobachtet. Die durchschnittliche Verlustrate über den gesamten Versuchszeitraum betrug 3,3 %, wobei Tiere der Riboflavin-Versorgungsstufe 6 (2,3 mg/kg) höhere Verluste (10,4 %) zeigten. Aufgrund steigender Verluste und vermehrt Tieren mit neurologischen Ausfällen, bei denen dies ebenfalls drohte, wurden die Varianten 1.6 und 2.6 ab dem 16. Versuchstag über das Tränkewasser zusätzlich mit Riboflavin aus der Fermentations-Suspension versorgt, um eine weitere Riboflavin-Mangelsituation zu vermeiden. Die Riboflavin-Varianten 6 zeigten ab der zweiten Woche bis Versuchsende signifikant niedrigere Futteraufnahmen als die restlichen Gruppen. Auch bei der kumulativen Futteraufnahme über den gesamten Aufzuchtzeitraum lagen die

Gruppen der Stufe 6 signifikant unter dem Niveau der übrigen Varianten. Die Gruppen mit geringerer Aminosäureausstattung konnten erwartungsgemäß nicht ihr Wachstumspotential ausschöpfen und blieben signifikant hinter den höher versorgten Gruppen zurück. Bereits ab Tag 7 waren die Tiere der AS-Stufe 2 signifikant leichter. Dies änderte sich bis zum Versuchsende nicht. Ähnlich verhielt es sich auch mit der Tiergruppe in der niedrigsten Riboflavin-Versorgungsstufe 6. Diese Varianten waren durchweg signifikant leichter als die Vergleichsvarianten.

Bei Legehennen (**Versuch 6**) wurde ein Fütterungsversuch über 8 Wochen mit insgesamt 144 Lohmann Brown-plus Legehybriden durchgeführt. Die Tiere wurden in der Versuchsstation Grünschwaige der HSWT in drei Rundbogenhallen (je vier Boxen) mit Zugang zu Grünauslauf gehalten. Es wurden drei Futtermischungen mit Riboflavin-Gehalten von 2,4; 3,6 oder 4,8 mg/kg eingesetzt, wobei die Supplementierung mit dem Fermentations-Trockenprodukt stattfand. Grundsätzlich kann aus den biologischen Leistungsdaten abgeleitet werden, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen in Abhängigkeit der Riboflavin-Gehalte zu beobachten waren ($P > 0,05$). Ebenso konnte kein gerichteter Zusammenhang zwischen der Riboflavin-Konzentration im Legemehl und der Konzentration je kg Vollei ermittelt werden. Hier lagen die Durchschnittswerte bei 4,13 mg/kg (LM 2,0), 4,35 mg/kg (LM 3,0) bzw. 4,20 mg/kg (LM 4,0), jeweils bezogen auf die Originalsubstanz. Auch bei den Analysewerten der Hühnerlebern konnten keine gerichteten Unterschiede festgestellt werden. Hier lagen die Durchschnittswerte bei 19,0 mg/kg (LM 2,0), 18,1 mg/kg (LM 3,0) und 20,8 mg/kg (LM 4,0).

Aus den durchgeführten Fütterungsversuchen kann abgeleitet werden, dass sowohl die Fermentations-Suspension als auch das Fermentations-Trockenprodukt auf Basis der *Ashbya gossypii*-Fermentation mit hohem natürlichen Riboflavin-Gehalt für den Einsatz bei Masthühnern, Masthühner-Elterntieren, Mastputen und Legehennen in der ökologischen Geflügelfütterung geeignet ist. Insbesondere bei jungem Geflügel kann damit eine bedarfsdeckende Versorgung mit Vitamin B₂ sichergestellt werden.

9. Literaturverzeichnis

Abbas C.A.; Sibirny, A.A. (2011) Genetic control of biosynthesis and transport of riboflavin and flavin nucleotides and construction of robust biotechnological producers. In: *Microbiology and molecular biology reviews*, 75 (2), 321–360. DOI: 10.1128/MMBR.00030-10.

Arijeniwa, A., Ikhimioya, I., Bamidele, O.K., Ogunmodede, B.K., (1996) Riboflavin requirement of breeding hens in a humid tropical environment. *Journal of Applied Animal Research*, 10(2), pp. 163–166.

Aviagen (2008) Feeding guidelines for Nicholas and B.U.T. heavy lines. Verfügbar unter: <http://www.aviagenturkeys.com/uploads/2015/11/20/NU06%20Feeding%20Guidelines%20for%20Nicholas%20&%20BUT%20Heavy%20Lines%20EN.pdf>.

Aviagen (2018) Ranger Gold Broiler performance objectives. Verfügbar unter: http://www.http://eu.aviagen.com/assets/Tech_Center/Rowan_Range/RangerGold-Broiler-PO-18-EN.pdf.

Aviagen Turkeys (2019) B.U.T. 6 performance objectives. Verfügbar unter: http://http://www.aviagenturkeys.com/uploads/2020/03/11/POBRB6_V5_BUT%206_Breeder%20Goals_UK_2020.pdf.

Baltes W., Matissek R. (2011) *Lebensmittelchemie*. 7. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Bellof G., Granz S. (2018) *Tierproduktion: Nutztiere züchten, halten und ernähren*. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag.

Bellof G., Schmidt E. (2007) Ökologische Geflügelmast - Lösungsmöglichkeiten für eine 100 % Bio-Fütterung. In: K. Wiesinger, K. Cais und S. Obermaier (Hg.): *Angewandte Forschung und Beratung für den ökologischen Landbau in Bayern*. Freising (Schriftenreihe der LfL, 3), S. 23–33. Verfügbar unter: <http://orgprints.org/13840/>.

Bigelis R. (1989): *Industrial products of biotechnology. Application of gene technology*. In: H. J. Rehm und G. Reed (Hg.): *Biotechnology*. Weinheim, S. 243.

Cai Z., Finnie J.W., Blumbergs P.C. (2006) Avian riboflavin deficiency: An acquired tomaculous neuropathy. *Veterinary Pathology*, 43(5), 780–781.

Chung T.K., Baker D.H. (1990) Riboflavin requirement of chicks fed purified amino acid and conventional corn-soybean meal diets. *Poultry Science*, 69(8), 1357–1363.

Crawley K. (2015) Fulfilling 100% organic poultry diets: roughage and foraging from the range. In: Smith, J., Gerrard, C.L., Sumption, P. (eds) *ICOPP Technical Note, Organic Research Center, UK*.

Deyhim F., Belay T., Teeter R.G. (1992) An evaluation of dietary riboflavin supplementation on growth rate, feed efficiency, ration metabolizable energy content, and glutathione reductase activity of broilers. In: *Nutrition Research* 12 (9), 1123–1130.

Flores-Garcia W. (1992) Einfluss verschiedener B-Vitamine, speziell des Riboflavins, auf Reproduktionsmerkmale bei Legehennen. *Dissertation, Universität Hohenheim*.

Förster C., Santos M.A., Ruffert S., Krämer R., Revuelta J.L. (1999) *Physiological*

consequence of disruption of the VMA1 gene in the riboflavin overproducer *Ashbya gossypii*. In: *The Journal of biological chemistry* 274 (14), 9442–9448.

GfE (2000) Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Legehennen und Masthühner (Broiler) 1999. Frankfurt am Main: DLG-Verlag.

GfE (2004) Empfehlungen zur Energie und Nährstoffversorgung der Mastputen, in *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*, 13, 199–233.

Gul W., Perveen S., Anwar Z., Qadeer K., Ahmad I. (2014) Methods of Analysis of Riboflavin (Vitamin B2): A Review. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 10–21.

Hafez H. M., Jodas S. (1997) *Putenkrankheiten*. Stuttgart, Enke Verlag.

Hubbard (2017) *Breeder nutrition guide*. Verfügbar unter: https://www.hubbardbreeders.com/media/breeder_nutrition_guideen__033215800_1521_26062017.pdf.

INRA (2017) *Vitamin B2 riboflavin*. Verfügbar unter: <https://www.feedtables.com/content/vitamin-b2-riboflavin>.

Jeroch H., Simon A., Zentek J. (2013) Fütterung des Mastgeflügels, in *Geflügelernährung*. Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag, S. 389–484.

Johnson W.D., Storts, R.W. (1988) Peripheral neuropathy associated with dietary riboflavin deficiency in the chicken I. Light microscopic study, *Veterinary Pathology*, 25(1), S. 9–16.

Jortner B. S., Cherry J.; Lidsky T.I., Manetto C., Shell L. (1987) Peripheral neuropathy of dietary riboflavin deficiency in chickens. In: *Journal of neuropathology and experimental neurology* 46 (5), 544–555.

Khajali F., Khoshoei E. A., Moghaddam A.K.Z. (2006) Effect of vitamin and trace mineral withdrawal from finisher diets on growth performance and immunocompetence of broiler chickens. In: *British poultry science* 47 (2), 159–162.

Kato T., Park E.Y. (2012) Riboflavin production by *Ashbya gossypii*. In: *Biotechnology letters* 34 (4), 611–618.

Ketz H.-A., E. Kolb, H. Gürtler (1972) *Ernährungsphysiologie der Landwirtschaftlichen Nutztiere*. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag.

Kirchgeßner M., Stangl G.I., Schwarz F.J., Roth F.X., Südekum K.H., Eder K. (2014) *Tierernährung: Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis*. Frankfurt am Main, DLG-Verlag.

Kurth R., Paust W., Haenlein W. (1996) *Vitamins*, Chapter 7. In: *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. 27. Aufl. Weinheim, S. 521–530.

Leeson S. (2007) Vitamin requirement: is there basis for re-evaluating dietary specifications?. *World's Poultry Science Journal*, 63, 255–266.

Leeson S., Reinhart B.S., Summers J.D. (1979a) Response of White Leghorn and Rhode Island Red breeder hens to dietary deficiencies of synthetic vitamins. 1. Egg production, hatchability and chick growth', *Canadian Journal of Animal Science*. NRC Research Press Ottawa, Canada, 59(3), 561–567.

Leeson S., Reinhart B.S., Summers J.D. (1979b) Response of White Leghorn and Rhode

Island Red breeder hens to dietary deficiencies of synthetic vitamins. 2. Embryo mortality and abnormalities, *Canadian Journal of Animal Science*. NRC Research Press Ottawa, Canada, 59(3), 569–575.

Leeson S., Summers J.D. (2005) *Commercial poultry nutrition*. Guelph, Ontario, Canada: University Books.

Lohmann Tierzucht (2019) *Management Guide. Alternative Haltung*. Available at: https://www.ltz.de/de-wAssets/docs/management-guides/de/Legehennen/Alternativ/LTZ_MG-AlternHaltung_DE.pdf.

Mack M., Grill S. (2006) Riboflavin analogs and inhibitors of riboflavin biosynthesis. In: *Applied microbiology and biotechnology* 71 (3), 265–275.

Marcu A., Vacaru-Opriş I., Dumitrescu G., Ciochină L.P.; Nicula M., et al. (2013) The influence of genetics on economic efficiency of broiler chickens growth. In: *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies* 46 (2), 339–346.

Naber E.C., Squires M.W. (1993a) Research note: Early detection of the absence of a vitamin premix in layer diets by egg albumen riboflavin analysis, *Poultry Science*, 72(10), 1989–1993.

Naber E.C., Squires M.W. (1993b) Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: Diet to egg transfer and commercial flock survey, *Poultry Science*, 72(6), 1046–1053.

NRC (1994) *Nutrient requirements of poultry*. 9th edn. Washington, DC: National Academy Press.

Ogunmodede B.K. (1977) Riboflavin requirement of starting chickens in a tropical environment, *Poultry Science*, 56, 231–234.

Olkowski A.A., Classen H.L. (1998) The study of riboflavin requirement in broiler chickens, *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 68(5), 316–27.

Revueelta J.L., Ledesma-Amaro R., Lozano-Martinez P., Díaz-Fernández D., Buey R.M., Jiménez A. (2017) Bioproduction of riboflavin. A bright yellow history. In: *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 44 (4-5), 659–665.

Rezaei M., Yngvesson J., Gunnarsson S., Jönsson L., Wallenbeck A. (2018) Feed efficiency, growth performance, and carcass characteristics of a fast- and a slower-growing broiler hybrid fed low- or high-protein organic diets. *Organic Agriculture*. Springer Netherlands, 8(2), 121–128.

Roth-Maier D., Kirchgeßner M. (1997) Investigations on riboflavin requirement of fattening chickens. *European Poultry Science*, 61, 14–16.

Ruiz N., Harms R.H. (1988) Riboflavin requirement of broiler chicks fed a corn-soybean diet. *Poultry Science*, 67(5), 794–799.

Rychen, G., Aquilina G., Azimonti G., Bampidis V., Bastos M. de L., Bories G., Chesson A., Flachowsky G., Gropp J., Kolar B., Kouba M., López-Alonso M., López Puente S., Mantovani A., Mayo B., Ramos F., Saarela M., Villa R.E., Wallace R.J., Wester P., Herman L., Glandorf B., Kärenlampi S., Aguilera J., Cocconcelli P.S. (2018) Safety of vitamin B2 (80%) as riboflavin produced by *Bacillus subtilis* KCCM-10445 for all animal species. *EFSA Journal*, 16(3).

Salami S.A., Oluwatosin O.O., Oso A.O., Fafiolu A.O., Sogunle O.M., Jegede A.V. (2016)

Bioavailability of Cu, Zn and Mn from Mineral Chelates or Blends of Inorganic Salts in Growing Turkeys Fed with Supplemental Riboflavin and/or Pyridoxine. In: *Biological trace element research* 173 (1), 168–176.

Sato M., Tachibana T., Furuse M. (2006) Heat production and lipid metabolism in broiler and layer chickens during embryonic development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. Pergamon, 143(3), 382–388.

Shepherd E.M., Fairchild B.D. (2010) Footpad dermatitis in poultry. *Poultry Science*, 89(10), 2043–2051.

Siegel P.B. (2014) Evolution of the modern broiler and feed efficiency. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2(1), 375–385.

Skinner, J. T.; Waldroup, A. L.; Waldroup, P. W. (1992): Effects of Removal of Vitamin and Trace Mineral Supplements from Grower and Finisher Diets on Live Performance and Carcass Composition of Broilers1. In: *The Journal of Applied Poultry Research* 1 (3), S. 280–286. DOI: 10.1093/japr/1.3.280.

Squires M.W., Naber E.C. (1993) Vitamin profiles of eggs as indicators of nutritional status in the laying hen: Riboflavin study. *Poultry Science*, 72(3), 483–494.

Stahmann K.-P., Revuelta J.L., Seulberger H. (2000) Three biotechnical processes using *Ashbya gossypii*, *Candida famata*, or *Bacillus subtilis* compete with chemical riboflavin production. In: *Applied microbiology and biotechnology* 53 (5), 509–516.

Tang J., Hegeman M.A., Hu J., Xie M., Shi W., Jiang Y. (2017) Severe riboflavin deficiency induces alterations in the hepatic proteome of starter Pekin ducks. In: *The British journal of nutrition* 118 (9), 641–650.

Tang J., Hu J., Xue M., Guo Z., Xie M., Zhang B. (2019) Maternal diet deficient in riboflavin induces embryonic death associated with alterations in the hepatic proteome of duck embryos. In: *Nutrition & metabolism* 16, 19.

Thorne M.H., Collins R.K., Sheldon B.L. (1991) Chromosome analysis of early embryonic mortality in layer and broiler chickens. *British Poultry Science*, 32(4), 711–22.

Turck D., Bresson J.-L., Burlingame B., Dean T., Fairweather-Tait S., Heinonen M., Hirsch-Ernst K.I., Mangelsdorf I., McArdle H.J., Naska A., Nowicka G., Pentieva K., Sanz Y., Siani A., Sjödin A., Stern M., Tomé D., Van Loveren H., Vinceti M., Willatts P., Lamberg-Allardt C., Przyrembel H., Tetens I., Dumas C., Fabiani L., Forss A.C., Ioannidou S., Neuhäuser-Berthold M. (2017) Dietary Reference Values for riboflavin. *EFSA Journal*, 15(8).

Watts D.L. (1990) Nutrient interrelationships. Minerals, vitamins, endocrines. In: *Journal of orthomolecular medicine* 5 (1), 11.

Welfare Quality®. 2009. Welfare Quality® Assessment protocol for poultry. Welfare Quality® Consortium, Lelystad, Netherlands.

Weiß J., Rau M., Geier A. (2014) Non-alcoholic fatty liver disease. Epidemiology, clinical course, investigation, and treatment. In: *Deutsches Arzteblatt international* 111 (26), 447–452.

Witten S., Aulrich K. (2018) Effect of variety and environment on the amount of thiamine and riboflavin in cereals and grain legumes. *Animal Feed Science and Technology*, 238, 39–

46.

Witten S., Aulrich K. (2019) Exemplary calculations of native thiamine (vitamin B1) and riboflavin (vitamin B2) contents in common cereal-based diets for monogastric animals. *Organic Agriculture*. Springer Netherlands, 9, 155–164.

Wyatt R.D., Tung H.T., Donaldson W.E., Hamilton P.B. (1973) A new description of riboflavin deficiency syndrome in chickens. *Poultry Science*, 52(1), 237–244.

10. Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt

10.1 Veröffentlichungen in referierten Fachzeitschriften

C. Lambertz, J. Leopold, K. Damme, W. Vogt-Kaute, S. Ammer, F. Leiber (2020) Effect of riboflavin source and dosage on performance traits and health indicators in broilers. *Animal* 14:716-724. DOI: 10.1017/S175173111900243X.

C. Lambertz, J. Leopold, K. Damme, W. Vogt-Kaute, S. Ammer, F. Leiber (...) A study on different sources and concentrations of riboflavin (vitamin B2) to feed organic breeding hens. (Eingereicht zur Publikation im Journal *Animal Feed Science Technology*, ANIFEE_2019_1404).

10.2 Berichte in landwirtschaftlichen Zeitschriften

R. Mäder (2019) Hürden für Vitamin-B2-Produkt. *Ökologie & Landbau* Ausgabe 04/2019, S. 44-45.

R. Mäder, C. Lambertz, J. Leopold (2019) Vitamine und Agro-Gentechnik. *BioTOPP*, Ausgabe 01/2019, S. 30-31.

10.3 Präsentationen auf Fachveranstaltungen

C. Lambertz, J. Leopold, S. Ammer, B. Thesing, C. Wild, K. Damme, F. Leiber (2020) Requirement-oriented supply of organic broilers with riboflavin from fermentation of *Ashbya gossypii*. 70. Jahrestagung der European Federation of Animal Science (EAAP), Porto, Portugal, 31.08.-04.09.2020.

C. Lambertz, B. Thesing, S. Ammer, C. Wild, K. Damme, F. Leiber (2020) Bedarfsgerechte Riboflavin-(Vitamin B2-)Versorgung beim langsam wachsenden Mastbroiler. 8. Öko-Landbautag Triesdorf, 01.04.2020.

S. Göppel, P. Weindl, C. Lambertz, K. Damme, G. Bellof (2020) Untersuchungen zur Riboflavinversorgung in der ökologischen Aufzucht schwerer Putenherkünfte. 8. Öko-Landbautag Triesdorf, 01.04.2020.

S. Göppel, P. Weindl, L. Pleger, G. Bellof (2020) Ökologische Putenmast: Bedarfsgerechte Riboflavinversorgung in der Aufzucht schwerer Putenherkünfte. GfE Tagung Göttingen, 04.03.2020.

C. Lambertz (2019) Bedarfsgerechte ökologische Fütterung von Geflügel: „Neue Quellen für Riboflavin“ – Vitamin B2-Fütterung beim Mastbroiler. Arbeitskreis ökologische Geflügelhaltung, Freising, 15.11.2019.

C. Lambertz (2019) Bedarfsgerechte ökologische Fütterung von Geflügel: „Neue Quellen für Riboflavin“. Geflügelberatertagung, Rot am See, 18.09.2019.

C. Lambertz, J. Leopold, K. Damme, W. Vogt-Kaute, S. Ammer, F. Leiber (2019) Einfluss einer alternativen Riboflavin-Quelle auf Leistung und Tiergesundheit von langsam wachsenden Masthühnern. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde e.V. (DGfZ) und der Gesellschaft für Tierzuchtwissenschaften (GfT), Giessen, 11./12.09.2019.

C. Lambertz, J. Leopold, K. Damme, W. Vogt-Kaute, S. Ammer, F. Leiber. (2019) Effect of riboflavin dosage and source on growth, slaughter traits and welfare of broilers. 69. Jahrestagung der European Federation of Animal Science (EAAP), Gent, Belgien, 26.08.-31.08.2019, S. 407.

Weindl P., Pleger L., Göppel S., Lambertz C. und Bellof G. (2020): Untersuchungen zur Riboflavinversorgung in der ökologischen Legehennenfütterung, 8. Öko-Landbautag der LfL und HSWT am 01.04.2020 in Triesdorf, Tagungsbandbeitrag.

10.4 Posterbeiträge auf Fachveranstaltungen

C. Lambertz, J. Leopold, K. Damme, W. Vogt-Kaute, S. Ammer, F. Leiber (2019) Einsatz einer ökokonformen Riboflavinquelle bei langsam wachsenden Mastbroilern. 57. Beratertagung der Bayerischen Arbeitsgemeinschaft Tierernährung, 10.10.2019.

C. Lambertz, J. Leopold, K. Damme, W. Vogt-Damme, S. Ammer, F. Leiber (2019) Effekte der Dosierung und Quelle von Riboflavin auf langsam wachsende Mastpoulets. Fachtagung Mengen- und Spurenelemente: essentiell für Leistung und Tiergesundheit, Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich, Schweiz, 14.05.2019.

10.5 Stellungnahmen

J. Leopold, C. Lambertz (2019) Bio-zertifiziertes Einzelfuttermittel mit hohem Gehalt an Vitamin B2 am Markt. Medienmitteilung, 24.04.2019.

II. Anhang

Anhang 1: Erfolgskontrollbericht Projektteil Agrano GmbH & Co KG

Anhang 2: Erfolgskontrollbericht Projektteil FiBL Deutschland e.V.

Anhang 3: Produktspezifikationen EcoVit R (Anhang 3a), EcoVit R st (Anhang 3b), EcoVit R Pulver (Anhang 3c) von Agrano GmbH & Co. KG

Anhang 4: Beurteilungsschreiben des Regierungspräsidiums Freiburg: Bewertung des Fermentationsprodukts aus *Ashbya gossypii* (Anhang 4a) und Ergänzungsschreiben (Anhang 3b)

Anhang 5: Referenzierte Publikation: C. Lambertz, J. Leopold, K. Damme, W. Vogt-Kaute, S. Ammer, F. Leiber (2020) Effect of riboflavin source and dosage on performance traits and health indicators in broilers. *Animal* 14:716-724. DOI: 10.1017/S175173111900243X