

## 8 ANHANG

### 8.1 Zusammensetzung des Futters

Sowohl Krafftutter als auch Heu wurden von der Blgg Deutschland GmbH, Parchim auf ihre Inhaltsstoffe überprüft.

Tab. 20 Zusammensetzung der Krafftutterration

Angaben des Futtermittelherstellers sind mit \* gekennzeichnet.

<b>Futtermittelbestandteil der Krafftutterration</b>	
Feuchte	10,9 %
Trockensubstanz	89,1 %
Rohasche	6,42 %
Rohprotein	18,03 %
Rohfaser	9,65 %
Calcium	0,65 %
Phosphor	0,59 %
Magnesium	0,27 %
Kalium	1,35 %
Natrium	0,42 %
Chlorid	0,46 %
Schwefel	0,21 %
Organisches ADF	13,28 %
Organisches NDF	25,46 %
ADL	3,99 %
Vitamin A	7200 IE*
Vitamin D3	1800 IE*
Selen	0,5 mg*
Kupfer	10 mg*
DCAB	+299 meq/kg TS
Nettoenergie-Laktation (NEL)	6,7 MJ/kg*
Entspricht nach Gleichung 21 Umsetzbarer Energie (ME)	10,41 MJ/kg

Gefüge: pelletiert

Geruch: arteigen

Farbe: bräunlich

Keine Verschmutzung, kein Schimmelpilzbefall

**Gleichung 21**

$$NEL \text{ (MJ/kg)} = 0,6 \times [1 + 0,004 (q - 57)] \times ME \text{ (MJ/kg)}$$

Tab. 21 Zusammensetzung der Heuration

Futtermittelbestandteil der Heuration	Frischmasse
Feuchte	6,5 %
Trockensubstanz	93,5 %
Rohasche	4,9 %
Rohprotein	8,8 %
Rohfaser	29,3 %
Kalium	1,44 %
Natrium	0,032 %
Organisches ADF	34 %
Organisches NDF	56,5 %
ADL	4 %
Umsetzbare Energie (ME)	9,3 MJ/kg
Nettoenergie-Laktation (NEL)	5,5
Nutzbares Rohprotein (nXP)	120,3 g/kg
Im Pansen abbaubares Rohprotein (UDP)	17,6 g/kg
Ruminale Stickstoffbilanz (RNB)	-5,2 g/kg
Nichtfaserige Kohlenhydrate (NFC)	22,5 %

Gefüge: blattärmer, etwas hart  
Geruch: fade  
Farbe: einwandfreie Heufarbe  
Schnittzeitpunkt: Beginn der Blüte  
Verschmutzung gering  
Kein Schimmelpilzbefall

## 8.2 Operation der Pansenfistel

Die Tiere wurden mit Xylazin tief sediert und auf dem Operations-Tisch in linker Seitenlage fixiert. Nach Rasieren und Desinfizieren der Flankenregion erfolgte eine L-förmige Infiltrationsanästhesie mittels Procain entlang der letzten Rippe und der Proc. transversi der Lendenwirbelsäule. Die Bauchwand wurde nach erneutem Desinfizieren links in Höhe des 5. Lendenwirbels dorsoventral Schicht für Schicht unter Blutstillung eröffnet. Der Pansen wurde mit einer zirkulären Pansennaht nach Götze am Peritoneum fixiert und eröffnet. Nach Blutstillung konnte der innere Teil der Fistel in den Pansen eingeführt und die Bauchwand in Höhe des 2. Lendenwirbels unterhalb der Proc. transversi von innen mittels aufgesetztem Dorn wundfern durchstoßen werden. Anschließend wurde der Pansen mit einstülpender Lembert-Naht verschlossen, das Peritoneum und die Bauchmuskulatur wurden ausstülpend vernäht. Die Eingabe eines lokalen Antibiotikums (Penicillin/Streptomycin) verhindert die Vermehrung von Eiterbakterien zwischen Muskulatur und der darauf folgenden Hautnaht (U-Hefte/Donati-Naht). Die Fistel wurde verschlossen, der äußere Fistelteil aufgesetzt und mit einer Metallschelle fixiert (s. Abb. 67). Die Wundabdeckung erfolgte mit Gaze. Die Tiere wurden für die Dauer von 1 Woche systemisch unter Antibiose (Penicillin) gesetzt.



Abb. 67 Pansenfistel bei einem Versuchstier

### 8.3 Zusammensetzung der Pufferlösungen

Tab. 22 Zusammensetzung des Transportpuffers

Inhaltsstoffe des Transportpuffers (Fa. Merck, Roth, Fluka, Riedel-de Haen)	Konzentration
Natrium	145,2 mmol/l
Kalium	5 mmol/l
Calcium	1 mmol/l
Magnesium	1 mmol/l
Bicarbonat	25 mmol/l
Chlorid	120 mmol/l
Dihydrogenphosphat	0,4 mmol/l
Hydrogenphosphat	2,4 mmol/l
Glucose	5 mmol/l
pH-Wert	7,4
Osmolarität	300 mosmol/l

Tab. 23 Zusammensetzung der Standard-Pufferlösung

Inhaltsstoffe der Standard- Pufferlösung (Fa. Merck, Roth, Fluka, Sigma, Riedel-de Haen)	Konzentration
Natrium	125 mmol/l
Kalium	5 mmol/l
Calcium	1 mmol/l
Magnesium	1 mmol/l
Bicarbonat	25 mmol/l
Chlorid	61 mmol/l
Dihydrogenphosphat	1 mmol/l
Hydrogenphosphat	2 mmol/l
Acetat	25 mmol/l
Propionat	10 mmol/l
Butyrat	5 mmol/l

Inhaltsstoffe der Standard- Pufferlösung (Fa. Merck, Roth, Fluka, Sigma, Riedel-de Haen)	Konzentration
Glucose	10 mmol/l
MOPS	8 mmol/l
Mannitol	35 mmol/l
pH-Wert	7,4
Osmolarität	300 mosmol/l

## 8.4 Ussing-Kammer-Methode

Verwendete Isotope:

Natrium:  $^{22}\text{Na}$  als NaCl, Beta- und Gamma-Strahler, Fa. PerkinElmer, Freiburg

Acetat:  $^{14}\text{C}$  als Acetat, Beta- und Gamma-Strahler, Fa. Amersham, Freiburg

## 8.5 Chromium-EDTA-Herstellung

Quelle: Binnerts et al. (1968)

Komponenten:

Fa. Merck:      Chromiumtrichlorid ( $\text{CrCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ ),  
                   Destilliertes Wasser  
                    $\text{Na}_2\text{EDTA}$   
                    $\text{CaCl}_2$   
                   Natriumhydroxid-Lösung (1 mM)

Herstellung:

14,2 g pures Chromiumtrichlorid ( $\text{CrCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ) in ein Becherglas (800 ml) geben und in 200 ml destilliertem Wasser lösen. 20 g des  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  in 300 ml destilliertem Wasser lösen und zu der ersten Lösung geben. Erhitzen bis zum Kochen; 1 Stunde kochen und dabei aufpassen (kocht über), bis eine tief violette Farbe entsteht, dann ist der Komplex entstanden. Das noch nicht gebundene EDTA mit Calciumchlorid (1 M) neutralisieren (ca. 4 ml). Die entstandene saure Lösung mit Natriumhydroxid-Lösung (1 mM) auf pH 7 bringen, auf 1 Liter auffüllen.

## 8.6 Primer

Tab. 24      Verwendete Primer kPCR

Abkürzung	Tierart	Start in der cds	Ende in der cds	Richtung	Sequenz 5'-3'	Produktlänge	TM	NCBI
ACAS2	Bos taurus	462	482	Sense	ggccatctacatgcctgtct	532	60,1	<u>AB046741</u>
ACAS2	Bos taurus	973	993	Antisense	atagctgtgtcccgtgatcc		59,96	
CA1	Ovis aries	4	23	Sense	gcaagtcctgactggggata	615	60,07	<u>NM_001009771</u>
CA1	Ovis aries	599	618	Antisense	ctcgtgaagaggagggtgag		59,98	
CA2	Bos taurus	38	58	Sense	ccgaacactggcataaggac	430	60,52	<u>NM_178572</u>
CA2	Bos taurus	445	467	Antisense	agggctgggttagcagcatcac		60,09	
MCT1	Ovis aries	89	108	Sense	tgggttctcttatgctgtt	465	59,98	<u>AJ315929</u>
MCT1	Ovis aries	534	553	Antisense	gtaagcccccagagaattagg		59,92	
NHERF1	Homo sapiens	489	509	Sense	ctatggcttcaacctgcaca	569	59,86	<u>AF036241</u>
NHERF1	Homo sapiens	1037	1057	Antisense	cgttttcttgctccagtcc		59,85	
NaKa	Ovis aries	2504	2524	Sense	gaaacccccagacagacaaa	406	59,94	<u>AY785285</u>
NaKa	Ovis aries	2889	2999	Antisense	gggcagtaggaaaggaaagc		60,21	

Tab. 25 Verwendete Primer qPCR

GOI-Name	Abkürzung	Start in der cds	Ende in der cds	Richtung	Sequenz 5'-3'	Produktlänge
Acetyl-CoA-Synthetase 2	ACAS2	842	862	Sense	g g g g g a t c t g g a t g t t t c t c	69
Acetyl-CoA-Synthetase 2	ACAS2	890	910	Antisense	a t g c t c t c t g g g g c a c a t a c	
Anionen-Austauscher 2	AE2	2968	2985	Sense	c c c g t g g g a t g a t g g t t	104
Anionen-Austauscher 2	AE2	3053	3071	Antisense	c g c t c c t t c t t g g a g a t g a	
beta-Actin	bAct	549	568	Sense	c g a c c t g a c c g a c t a c c t c a	91
beta-Actin	bAct	620	639	Antisense	t t t g a t g t c a c g c a c g a t t t t	
Monocarboxylat Transporter 1	MCT1	314	335	Sense	t c t g t a a c a c t g t g c a g g a a c t	80
Monocarboxylat Transporter 1	MCT1	374	393	Antisense	a a g c c g g a t t t a a g t t g a a g g	
Natrium-Bicarbonat-Cotransporter	NBC	891	911	Sense	t c c t t c a t t g c t t t g t t c g	119
Natrium-Bicarbonat-Cotransporter	NBC	990	1009	Antisense	a a g a c t t g g c t t t c c c t t a	
Natrium-Kalium-ATPase alpha	NaKa	2683	2703	Sense	g a c g t g g a g g a c a g c t a t g g	86
Natrium-Kalium-ATPase alpha	NaKa	2748	2768	Antisense	g c a g g t g a a t t c c a c g a t c t	
Na-Protonen-Austauscher 1	NHE1	1004	1026	Sense	c t c c t c t a c a g c t a c a t g g c c t a c	114
Na-Protonen-Austauscher 1	NHE1	1099	1117	Antisense	g g g a g a t g t t g g c t t c c a c	
Na-Protonen-Austauscher 3	NHE3	1631	1649	Sense	a c g g c a c t c a c g t t c t c c	120
Na-Protonen-Austauscher 3	NHE3	1731	1750	Antisense	c c t g g a t t t c a t c c g t t c t	
NHE-releasing factor 1	NHERF1	858	877	Sense	a a g a a c c g c c t c c a g t g a c	75
NHE-releasing factor 1	NHERF1	912	932	Antisense	g g t g c t g t g g a g t c c t g t t t	
Vakuoläre Protonen-ATPase UE B	vHB	1017	1036	Sense	t c g a g t g g a a g g t c g a a a t g	88
Vakuoläre Protonen-ATPase UE B	vHB	1085	1104	Antisense	c a a g t c a g g g a t t g g g t g a g	
vakuoläre Protonen-ATPase UE E	vHE	413	432	Sense	a a g c a g g a t t t c c c t c t g g t g	81
vakuoläre Protonen-ATPase UE E	vHE	474	493	Antisense	c a t c a a c g c c t c t t t t g g t t	
Carboanhydrase 1	CA1	329	349	Sense	t g g a t g g a g c c a c a t t t t c t	73
Carboanhydrase 1	CA1	381	401	Antisense	t c a g c a a a g c t g g g t a c t t	
Carboanhydrase 2	CA2	75	95	Sense	g a g t t t g a t g a c t c g c a g g a	72
Carboanhydrase 2	CA2	124	146	Antisense	g a a c c a a t g t g t a a g t g c c a g t	

## **8.7 Materialien zur Blutentnahme**

Verwendetes Material:

Kanülen: Fa. Sarstedt  
EDTA-K Röhrchen: Fa. Sarstedt,  
Serum-Röhrchen: Fa. Kabe Labortechnik  
Eppendorf-Gefäße zur Serum-Aufbewahrung