

**ASPECTS OF SELENIUM IN NUTRITION:
CHOICE FEEDING IN SELENIUM-DEFICIENT LAYING HENS**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by
CHRISTINE ANNE ZUBERBÜHLER
Dipl. Natw. ETH Zürich
born September 21, 1962
citizen of
Winterthur, ZH and Urnäsch, AR

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. C. Wenk, examiner
Prof. Dr. W. Langhans, co-examiner

SUMMARY

Epidemiological studies indicate a relationship between low selenium (Se) intake and widespread degenerative diseases (atherosclerosis, cancers, etc.). It seems therefore advisable to increase selenium intake of afflicted populations.

It is generally agreed that animals suffering from deficiency of a particular nutrient select a diet containing appropriate amounts of this nutrient probably because they are urged to cure a deficiency discomfort. Until now it has not been verified if this behavior occurs in animals with moderate selenium deficiency.

The present study investigated if moderately selenium-deficient laying hens try to reduce the deficiency when they have a choice between two feeds with different selenium content, by selecting a diet containing more selenium than if they are selenium-adequate. Furthermore, it was investigated if the actual choice performed by the hens affected the hens' body weight, laying rate and selenium status and if thereby selenium content, fatty acid profile and oxidative stability of their eggs may be altered. In addition, age dependency of the observed treatment effects was tested.

Three diets differing only in their selenium content were prepared by supplementing two portions of a Low-Se diet (0.071 mg Se/kg) with increasing amounts of Se-yeast to give a Medium-Se (0.201 mg Se/kg) and a High-Se (1.500 mg Se/kg) diet. 56 laying hens, 21 weeks old, were randomized to seven treatment groups of eight hens each. The study lasted for 42 weeks and consisted of two consecutive parts (I and II) of three treatment periods each. The hens were subjected to the same treatments in both parts of the study. First, all hens were adapted for six weeks baseline to Medium-Se diet offered in two feed troughs. Within the following nine weeks depletion period, half of the birds were fed Low-Se diet, whereas the other half continued to receive Medium-Se diet. During the subsequent six weeks of choice feeding both groups were divided into three sub-groups, each of which was offered simultaneously two diets with different Selenium content, either Low-Se and Medium-Se, or Medium-Se and High-Se, or Low-Se and

High-Se. A control group received Medium-Se diet in both feed troughs for the entire duration of the study.

Body weight increased significantly with age in all treatment groups. However, the two groups of hens offered Low-Se with Medium-Se diets for choice tended to eat less during the last three weeks of choice feeding in part I and consequently stopped growing whereas all other hens, including the control, continued to grow during part II until the end of the study.

During the depletion period serum selenium concentration (SSE), glutathione peroxidase activity (GPx), egg yolk selenium content (YSE) and egg white selenium content (WSE) significantly decreased and thyroxine (T4) significantly increased in hens fed Low-Se diet, confirming gradual selenium depletion. Selenium-deficient hens displayed a significant preference for High-Se diet over Low-Se diet during the first three weeks of choice feeding. This preference was reflected in significantly higher SSE, YSE and WSE. GPx activity did not reflect diet preference probably because selenium intake exceeded the amount of selenium needed for maximal GPx activity. None of the other variables was significantly altered by the preferred diet. The preference disappeared after three weeks of choice feeding, probably because the selenium deficiency was compensated by this time.

Part II of the study was similar, in that SSE, GPx, YSE and WSE significantly decreased whereas T4 significantly increased during the second depletion period in hens fed the Low-Se diet. However, if these hens previously were offered a choice of Low-Se/Medium-Se then they had even significantly lower SSE, YSE and WSE than those with a choice of Medium-Se/High-Se or Low-Se/High-Se. In addition, during the second choice period selenium deficient hens offered a choice of Low-Se/High-Se did not display a preference for a particular diet, as they did so impressively in part I.

Both differences indicate that offering moderately selenium-deficient hens a choice of either High-Se/Low-Se or High-Se/Medium-Se, in contrast to a choice of Low-Se/Medium-Se, may have allowed the hens to store excess selenium, which is made available through normal protein turnover. This process became apparent only during a second depletion period because the released amount of selenium contributed significantly to the selenium content found in serum, egg yolk and egg white of hens

depleted with the Low-Se diet once more. These selenium stores may have prevented the development of a discomfort causing selenium deficiency, whereby the hens lacked the driving force to select a specific diet during the second choice feeding period.

Selenium content of eggs trebled during selenium supplementation by choice feeding High-Se with either Low-Se or Medium-Se diet providing enough selenium to cover about 30-50 % of the recommended daily intake for humans. Eggs enriched in this way with selenium would thus contribute considerably to the daily selenium intake if they were consumed directly or used in industrial food production.

ZUSAMMENFASSUNG

Epidemiologische Studien deuten darauf hin, dass weitverbreitete degenerative Erkrankungen des Menschen (Atherosklerose, Krebs, etc.) in Zusammenhang stehen mit einer Selenunterversorgung. In Selenmangelgebieten scheint es daher angezeigt, die Selenzufuhr der Bevölkerung zu erhöhen.

Es ist bekannt, dass ein Nährstoffmangel betroffene Tiere dazu drängt eine Diät auszuwählen welche diesen Mangel wieder zum Verschwinden bringt, wahrscheinlich infolge eines, durch den Mangel verursachten, Unwohlseins. Bisher ist jedoch noch nicht geprüft worden, ob dieses Verhalten bei einem moderaten Mangel des essentiellen Spurenelements Selen (Se) auftritt.

In der vorliegenden Studie wurde deshalb untersucht, ob Legehennen mit moderatem Selenmangel versuchen diesen auszugleichen, indem sie bei Wahlmöglichkeit zwischen zwei Diäten mit unterschiedlichem Selengehalt diejenige Diät mit dem höherem Selengehalt bevorzugen. Des weiteren wurde untersucht, ob sich die getroffene Futterwahl auf das Körpergewicht, die Legeleistung sowie den Selenstatus der Hennen auswirkt und ob dadurch der Selengehalt, das Fettsäurenprofil und die Oxidationsstabilität der Eier beeinflusst wird. Ferner wurde überprüft ob die Behandlungseffekte altersabhängig sind.

Für diesen Zweck wurden 56 Legehennen, im Alter von 21 Wochen, randomisiert in sieben gleich grosse Behandlungsgruppen eingeteilt. Drei Diäten, welche sich einzig in ihrem Selengehalt unterschieden, wurden aus einer selenarmen (Low-Se, 0.071 mg Se/kg) Futtergrundmischung hergestellt, indem zwei Portionen davon mit unterschiedlichen Mengen Selenhefe auf einen mittleren (Medium-Se, 0.201 mg Se/kg) und einen hohen (High-Se, 1.500 mg Se/kg) Selengehalt supplementiert wurden.

Die Studie dauerte insgesamt 42 Wochen und wurde mit den gleichen Hennen in zwei identischen, direkt aufeinanderfolgenden Teiluntersuchungen (Teil I und II) durchgeführt, die aus je drei verschiedenen Behandlungsperioden bestanden. Auf eine Gewöhnungsperiode von sechs Wochen mit Medium-Se Futter in beiden Trögen für alle

Hennen folgte eine neun wöchige Depletionsperiode mit Low-Se Futter für die eine Hälfte der Hennen und weiterhin Medium-Se Futter für die andere Hälfte. Abschliessend folgten sechs Wochen Wahlfütterung während welcher den Hennen jeweils zwei verschiedene Diäten zur Wahl angeboten wurden. Die Kombinationen waren Low-Se und Medium-Se, Medium-Se und High-Se, sowie Low-Se und High-Se. Eine Kontrollgruppe erhielt während der ganzen Studie Medium-Se Futter in beiden Trögen.

Das Körpergewicht nahm mit dem Alter in allen Behandlungsgruppen signifikant zu. Es zeigte sich jedoch, dass die zwei Gruppen welche Low-Se und Medium-Se Futter zur Auswahl hatten während den letzten drei Wochen Wahlfütterung in Teil I tendenziell weniger frassen und im Körpergewicht konstant blieben, wohingegen alle anderen Gruppen bis zum Ende der Studie weiter an Gewicht zunahmen.

Während der Depletionsperiode bewirkte die Verfütterung von Low-Se Futter eine allmähliche, signifikante Abnahme der Selenkonzentration im Serum (SSE), im Eidotter (YSE) und im Eiklar (WSE) und in der Aktivität der Glutathionperoxidase (GPx) im Plasma, sowie einen signifikanten Anstieg der Plasmakonzentration von Thyroxin (T4) und eine vorübergehende Abnahme der Plasmakonzentration von Trijodthyronin (T3), was die Entstehung eines moderaten Selenmangels bestätigte.

Während der ersten drei Wochen Wahlfütterung in Teil I wählten Hennen mit moderatem Selenmangel signifikant mehr vom High-Se Futter als vom Low-Se Futter, verglichen mit selenadäquaten Hennen. Diese Futterwahl widerspiegelte sich in einem signifikant höheren SSE, YSE und WSE, verglichen mit den selenadäquaten Hennen, welchen die gleichen Diäten zur Auswahl standen. Die Aktivität der GPx widerspiegelte die Futterpräferenz hingegen nicht, wahrscheinlich weil die Selenaufnahme den Selenbedarf für eine maximale GPx Aktivität überstieg. Nach drei Wochen Wahlfütterung verschwand die Futterpräferenz, vermutlich weil der Selenmangel zu diesem Zeitpunkt bereits wieder ausgeglichen war.

Der zweite Teil der Studie verlief sehr ähnlich. Es zeigte sich jedoch während der zweiten Depletionsperiode, dass Hennen, welche vorher Low-Se und Medium-Se Futter zur Wahl hatten signifikant niedrigere SSE, YSE und WSE aufwiesen, als jene mit Wahl zwischen High-Se und entweder Medium-Se oder Low-Se Futter. Zudem zeigten Hennen mit Wahl zwischen High-Se und Low-Se, trotz signifikanter Abnahme von SSE,

GPx, YSE und WSE und signifikantem Anstieg von T4 bei vorgängiger Fütterung des Low-Se Futters, keine Futterpräferenz während der zweiten Wahlfütterung.

Beides deutet darauf hin, dass Hennen, denen während der ersten Wahlfütterung High-Se Futter zur Auswahl stand, den bedarfsübersteigenden Anteil Selen im Körper speicherten und dann kontinuierlich wieder aus den Speichern freisetzen. Dies bewirkte bei diesen Hennen, während der zweiten Depletion mit Low-Se Futter, einerseits den höheren Selengehalt im Serum und den Eiern, und verhinderte andererseits möglicherweise die erneute Entstehung eines Selenmangels. Die Hennen wurden somit nicht mehr zu einer spezifischen Futterwahl gedrängt, wie im ersten Teil der Studie.

Der Selengehalt in den Eiern von Hennen, die durch Wahlfütterung von High-Se und Low-Se oder Medium-Se Futter mit Selen supplementiert wurden, verdreifachte sich, so dass ein Ei ca. 30-50 % der für den Menschen empfohlenen täglichen Zufuhr decken würde. Der Verzehr derart angereicherter Eier, und insbesondere auch deren Einsatz in der industriellen Lebensmittelproduktion, würde daher beträchtlich zu einer Verbesserung der täglichen Selenzufuhr beitragen.