

Wachstum und hämatologische Kriterien von Ratten bei unterschiedlicher Protein- und Eisenversorgung

A. M. Reichlmayr-Lais, M. Kirchgeßner, J. J. Kim und E. Graßmann

Institut für Ernährungsphysiologie der Technischen Universität München
in Freising-Weihenstephan

Zusammenfassung

In einem 2faktoriell angelegten Versuch mit Ratten, deren Anfangsgewicht 32 g betrug, wurden als Faktoren die Proteinversorgung (5, 25, 45 %) und die Fe-Zufuhr (5, 25, 625 mg/kg Diät) variiert. Beide Faktoren sowie ihre Wechselbeziehungen beeinflussten die Lebendmasseentwicklung ($p < 0,001$). Das Wachstum war besonders stark bei mangelnder Proteinversorgung, aber auch bei unzureichender Fe-Versorgung und im geringen Ausmaß auch bei einem überhöhten Proteingehalt der Diät reduziert. Auch die Blutwerte Hämoglobingehalt, Erythrozytenzahl, Hämatokrit, MCV, MCH und MCHC – gemessen nach 35 Versuchstagen – wurden von beiden Faktoren und ihren Wechselbeziehungen beeinflusst ($p < 0,001$). Am stärksten wirkten sich wiederum eine mangelnde Proteinversorgung einerseits und eine unzureichende Fe-Versorgung andererseits aus. Sowohl bei Lebendmasse als auch bei den hämatologischen Parametern war unabhängig von der Fe-Versorgung die mangelnde Proteinversorgung limitierender Faktor, während bei höherem Proteingehalt eine unzureichende Fe-Versorgung sich negativ auswirkte.

Summary

In a two-factorial experiment with growing rats, protein content of diet (5, 25, 45 %) and Fe supply (5, 25, 625 mg/kg diet) were changed. Both factors as well as their interactions influenced growth ($p < 0.001$). The growth was reduced especially by deficient protein supply but although by inadequate iron supply and in a smaller degree by an excessive protein content of the diet.

Hematological values as hemoglobin content, counts and volume of erythrocytes, hematocrit, MCH and MCHC – measured after 35 days of the experiment – were influenced by both factors and their interactions, too ($p < 0.001$). Again deficient protein supply and insufficient Fe supply have the marked effects. Referring life weight as well as hematological parameters, the deficient protein supply was – independent of Fe supplementation – the limited factor, whereas in the cause of higher protein content (25, 45 %) an insufficient Fe supply has negative effects.

Schlüsselwörter: unterschiedliche Fe-Versorgung, unterschiedliche Proteinversorgung, Wachstum, hämatologische Kriterien

Einleitung

Bedarf und Stoffwechsel eines Spurenelementes werden erheblich durch Interaktionen mit anderen Spurenelementen, aber auch mit anderen Nahrungsbestandteilen beeinflusst. Besonders die Proteinversorgung

spielt für den Spurenelement-Haushalt eine sehr bedeutsame Rolle, da Transport, Speicherung und Funktionen eines Spurenelementes in der Regel an Proteine gebunden sind.

Ziel von Untersuchungen war es, den Einfluß der Proteinversorgung auf den Spurenelement-Haushalt am Beispiel Eisen aufzuzeigen. Dazu wurden bei mangelnder, bedarfsdeckender und erhöhter Fe- als auch Proteinversorgung Kriterien des Fe-Stoffwechsels überprüft. In einer ersten Arbeit soll über den Einfluß der Faktoren Protein- und Fe-Versorgung auf Lebendmasseentwicklung und hämatologische Parameter berichtet werden.

Material und Methoden

72 männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Anfangsgewicht von 32 g wurden nach einem 2faktoriellen Versuchsplan in 9 Gruppen zu je 8 Tieren verteilt. Als Faktoren wurden die Fe-Versorgung in drei Stufen – 5, 25, 625 ppm – und der Proteingehalt der Diät ebenfalls in drei Stufen – 5, 25, 45 % – variiert. Die Tiere erhielten ad libitum eine halbsynthetische Diät auf Casein-Stärke-Saccharose-Basis mit bedarfsdeckenden Vitamin- und Mineralstoffzusätzen (Pallauf und Kirchgeßner, 1971). Für unterschiedliche Proteinstufen wurden Casein gegen Stärke gewichtsmäßig ausgetauscht und energetische Differenzen durch den Fettgehalt (Kokosfett) ausgeglichen. Neben der Diät stand den Tieren auch destilliertes Wasser mit 0,014 % NaCl zur freien Verfügung.

Die Tiere wurden in einem klimatisierten Raum (Raumtemperatur $25 \pm 1^\circ\text{C}$, relative Luftfeuchte 60 %) in Makrolonkäfigen mit Plexiglasabdeckung und -laufrosten gehalten. Der Raum wurde 12 Stunden pro Tag durch eine künstliche Lichtquelle in Dämmerlicht gehalten.

Nach 35 Versuchstagen wurden die Tiere unter Äthernarkose dekapitiert und ein Teil des Blutes in heparinisierte Gefäße für die Bestimmung der hämatologischen Werte aufgefangen. Das Hämoglobin wurde als Hämoglobincyanid mit Hilfe eines Testes, die Erythrozyten turbidimetrisch (Hellige, 1969) und der Hämatokrit nach Zentrifugation ermittelt. Aus diesen Werten ließen sich das mittlere korpuskuläre Zellvolumen (MCV), das mittlere korpuskuläre Hämoglobin (MCH) und die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) berechnen.

Die Versuchsdaten wurden varianzanalytisch ausgewertet. Unterschiede bei Gruppenmittelwerten wurden mit Hilfe des multiplen t-Testes auf ihre Signifikanz geprüft. Mittelwerte, die keinen gemeinsamen hochgestellten Buchstaben aufweisen, sind signifikant verschieden. Die \pm -Werte in den Ergebnistabellen stellen Standardabweichungen der Einzelwerte dar.

Ergebnisse

Lebendmasse

Die Lebendmasseentwicklung wachsender Ratten infolge einer unterschiedlichen Fe- und Proteinversorgung ist zusammen mit einer tabellari-schen Angabe der Lebendmasse am Versuchsende in Abbildung 1 dargestellt. Sie wurde in starkem Maße sowohl von der Fe-Versorgung ($p < 0,001$) und dem Proteingehalt der Diät ($p < 0,001$) als auch von Wechselbeziehungen zwischen diesen Faktoren beeinflusst ($p < 0,001$). Das geringste Wachstum – bereits ab dem 1. Versuchstag – zeigten die Ratten, denen eine Diät mit nur 5 % Protein verfüttert wurde. Bei diesem niedrigen Proteingehalt in der Diät wirkte sich eine gleichzeitige mangelnde Fe-

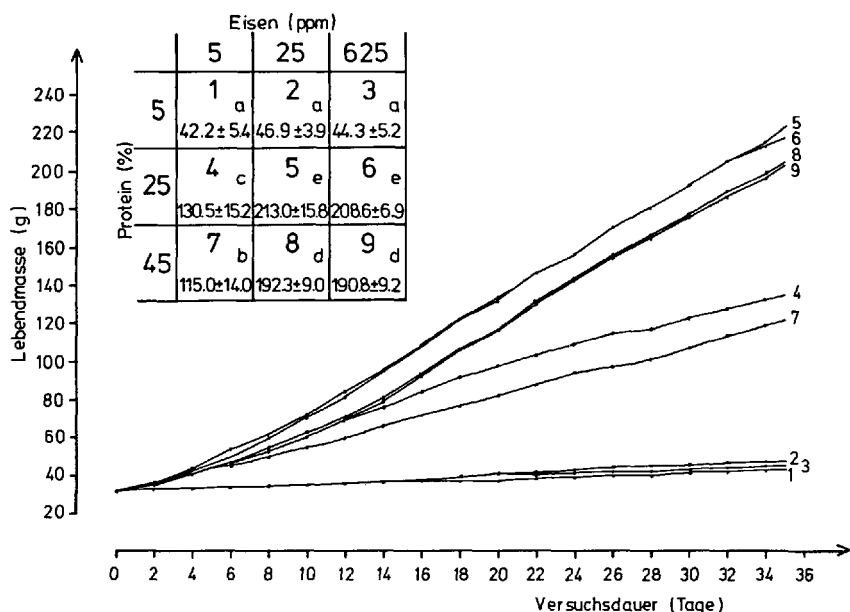


Abb. 1: Lebendmasseentwicklung von Ratten bei unterschiedlicher Eisen- und Proteinversorgung

Versorgung nicht zusätzlich negativ auf das Wachstum aus, während die mangelnde Fe-Zufuhr im Vergleich zu einer höheren Fe-Versorgung bei einem höheren Proteingehalt (25 und 45 %) die Zunahmen verminderten. Die erhöhte Fe-Zulage von 625 ppm bewirkte einerseits kein verstärktes Wachstum mehr und andererseits noch keine Wachstumsdepressionen. Dagegen war die Lebendmasseentwicklung bei einem sehr hohen Proteingehalt in der Diät im Vergleich zu der mittleren Zufuhr von 25 % Protein in der Diät reduziert.

Hämatologische Werte

Hämoglobingehalt des Blutes, Zahl und Volumen der Erythrozyten, Hämatokrit, MCH und MCHC der Ratten am Versuchsende sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen wurden sämtliche Größen sowohl von Fe- ($p < 0,001$) und Proteingehalt ($p < 0,001$) als auch von den Wechselbeziehungen zwischen den beiden Faktoren ($p < 0,001$) beeinflusst.

Auf die Hämoglobinkonzentration des Blutes wirkte sich bei bedarfsdeckender und überhöhter Proteinversorgung am stärksten der Fe-Gehalt der Diät aus. Ein Fe-Gehalt von 5 ppm verursachte einen niedrigen Hämoglobingehalt im Vergleich zu einer Fe-Zulage von 25 bzw. 625 ppm. Bei einem Proteingehalt von 25 % in der Diät war der Hämoglobingehalt bei einer gleichzeitigen Fe-Zufuhr von 625 ppm noch höher als bei einer Fe-Zulage von 25 ppm. Dagegen bewirkte bei einem hohen Proteingehalt der Diät (45 %) eine Erhöhung des Fe-Gehaltes von 25 auf 625 ppm keine Steigerung mehr.

Tab. 1. Hämatologische Werte wachsender Ratten nach unterschiedlicher Protein- und Fe-Zufuhr.

Proteingehalt der Diät (%)	5	Fe-Zulage (ppm)	625
		25	
		Hämoglobin (mg/ml)	
5	10,2 ± 0,9 ^b	11,1 ± 0,8 ^c	11,0 ± 0,7 ^c
25	4,7 ± 0,4 ^a	14,4 ± 0,4 ^d	15,2 ± 0,5 ^e
45	5,2 ± 0,5 ^a	15,3 ± 0,5 ^e	15,6 ± 0,6 ^e
		Erythrozyten (10 ⁶ /μl)	
5	4,6 ± 0,5 ^b	4,9 ± 0,5 ^{bc}	4,7 ± 0,4 ^{bc}
25	2,4 ± 0,1 ^a	5,0 ± 0,3 ^c	5,5 ± 0,3 ^d
45	2,6 ± 0,2 ^a	5,0 ± 0,2 ^c	5,0 ± 0,2 ^c
		MCV (μm ³)	
5	82,3 ± 8,0 ^a	83,2 ± 7,1 ^a	82,7 ± 4,9 ^a
25	97,2 ± 5,3 ^{bc}	101,4 ± 7,2 ^{bcd}	92,8 ± 3,3 ^b
45	96,1 ± 5,7 ^b	103,3 ± 5,3 ^{cd}	105,5 ± 4,3 ^d
		Hämatokrit (%)	
5	36,1 ± 4,8 ^b	40,6 ± 3,1 ^c	39,1 ± 2,2 ^c
25	23,1 ± 1,0 ^a	49,9 ± 2,2 ^d	50,6 ± 1,4 ^d
45	25,1 ± 2,2 ^a	51,2 ± 1,5 ^d	52,3 ± 1,6 ^d
		MCH (pg)	
5	22,4 ± 2,2 ^{cd}	21,4 ± 1,9 ^{bc}	23,5 ± 1,2 ^d
25	19,8 ± 1,1 ^a	29,1 ± 2,1 ^f	27,9 ± 1,4 ^e
45	19,9 ± 1,4 ^{ab}	30,8 ± 1,4 ^g	31,6 ± 1,7 ^g
		MCHC (g Hb/100 ml Ery)	
5	28,5 ± 2,5 ^{bc}	27,5 ± 1,0 ^b	28,1 ± 0,6 ^{bc}
25	20,4 ± 1,2 ^a	28,9 ± 0,8 ^{cd}	30,0 ± 0,7 ^d
45	20,7 ± 0,8 ^a	29,8 ± 0,5 ^d	29,9 ± 0,6 ^d

Die Zahl der Erythrozyten pro Volumeneinheit wurde ebenso am stärksten vom Fe-Gehalt der Diät beeinflusst. Sie war erheblich reduziert bei einer mangelnden Fe-Versorgung (5 ppm) und gleichzeitig höherem Proteingehalt (25 bzw. 45 %), während sie bei einem niedrigen Proteingehalt (5 %) unabhängig von der Höhe der Fe-Versorgung war.

Dagegen war das MCV in erster Linie vom Proteingehalt der Diät abhängig. Bei einem niedrigen Proteingehalt der Diät (5 %) war das MCV unabhängig von der Höhe der Fe-Zufuhr kleiner als bei einem höheren Diät-Proteingehalt.

Veränderungen bei der Zahl und beim Volumen der Erythrozyten spiegeln sich summarisch beim Hämatokrit wider. Bei einem niedrigen Proteingehalt der Diät sowie auch bei einem niedrigen Fe-Gehalt der Diät ist der Hämatokrit reduziert. Bei höherem Proteingehalt (25 %, 45 %) und gleichzeitig höherem Fe-Gehalt (25, 625 ppm) sind die Gruppenmittelwerte nicht signifikant verschieden.

Das mittlere korpuskuläre Hämoglobin war sowohl bei mangelndem Proteingehalt als auch bei mangelnder Fe-Versorgung reduziert. Gegenüber einem Proteingehalt von 25 % waren bei einem Proteingehalt von 45 % bei gleichzeitig höherem Fe-Angebot (25, 625 ppm) das MCH erhöht.

Die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration war wesentlich bei mangelnder Fe-Zufuhr reduziert, während eine mangelnde Proteinzufuhr sich nur geringfügig negativ auf die MCHC auswirkte. Bedingt durch einen hohen Hämoglobingehalt und durch eine höhere Zahl an Erythrozyten pro Volumeneinheit bei gleichzeitig mangelhafter Fe- und Proteinversorgung war bei diesen Bedingungen die MCHC nicht wesentlich beeinträchtigt.

Insgesamt war auffallend, daß die Werte für Hämoglobin, Erythrozyten, Hämatokrit, MCH und MCHC bei der niedrigen Fe-Versorgung von 5 ppm bei niedrigem Proteingehalt der Diät höher lagen als bei einem Proteingehalt von 25 bzw. 45 %.

Diskussion

Der Organismus benötigt für Erhaltung und Leistung eine bestimmte Menge an Spurenelementen. Dabei ist zwischen Netto- und Bruttobedarf zu unterscheiden (Weigand und Kirchgeßner, 1977). Der Nettobedarf wird durch die Funktionen der Spurenelemente für Erhaltung und Leistung determiniert. Um diesen Nettobedarf decken zu können, muß mit der Nahrung eine höhere Menge zugeführt werden, die als Bruttobedarf definiert ist. Der Bruttobedarf ist nämlich abhängig von der Höhe der Verwertung eines Spurenelementes (siehe Kirchgeßner et al., 1974a), die bei Absorption und intermediär von zahlreichen Faktoren nutritiver und nichtnutritiver Art beeinflußt werden kann. Aber auch der Nettobedarf kann sich unter bestimmten Bedingungen, z. B. in Abhängigkeit von der Leistung oder durch Änderung der Nahrungszusammensetzung, ändern. Dadurch können auch Parameter eines Spurenelement-Stoffwechsels in ihrer Höhe beeinflußt werden, so daß für praktische Fragen der Bedarfsableitung, Diagnose des Status sowie Therapiekontrolle diese bei der Interpretation berücksichtigt werden müssen (siehe z. B. Kirchgeßner et al., 1982). Für die experimentelle Bedarfsableitung wird häufig auch die Lebendmasseentwicklung von Versuchstieren als Kriterium herangezogen. Speziell für das Element Eisen spielen der Hämoglobingehalt und die Erythrozytenzahl sowohl bei Bedarfsableitung als auch für die Diagnose eine bedeutende Rolle. Von diesen Parametern ist bekannt, daß sie auch von der Proteinversorgung beeinflußt werden (z. B. Krziwanek et al., 1978).

Lebendmasse

Eine mangelhafte Proteinversorgung bewirkte grundsätzlich ein verringertes Wachstum bei den Versuchstieren, wie auch aus zahlreichen Untersuchungen bekannt ist (z. B. Forbes et al., 1935; Halac, 1962; Krziwanek et al., 1978; Tulp und Horton, 1981; Warniek und Lazarus, 1982). Vorliegende Ergebnisse zeigen darüber hinaus, daß bei der verwendeten Versuchsdiet bei einem Fe-Gehalt von 5 ppm keine zusätzliche Wachstumsdepression eintrat, also bei mangelhafter Proteinversorgung die Proteinzufuhr unabhängig von der Fe-Zufuhr für das Wachstum limitierend war. Dies bedeutet auch, daß bei mangelnder Proteinzufuhr der Bedarf an Eisen reduziert ist.

Dagegen trat bei höherer Proteinzufuhr eindeutig ein negativer Wachstumseffekt der mangelhaften Fe-Versorgung auf die Lebendmasseent-

wicklung auf. Wachstumsdepressionen infolge einer mangelnden Fe-Versorgung sind in Abhängigkeit von Dauer und Ausmaß der Unterversorgung hinreichend in der Literatur beschrieben (z. B. Kirchgeßner et al., 1971, 1974b; Graßmann und Kirchgeßner, 1973). Als Hauptursache ist eine verminderte Sauerstoffversorgung des Organismus anzuführen. Darüber hinaus dürften weitere Veränderungen im Stoffwechsel dazu beitragen, da Eisen in zahlreichen Prozessen essentielle Funktionen erfüllt, die bei unzureichender Fe-Zufuhr beeinträchtigt sein können (siehe auch Underwood, 1977).

Auch eine erhöhte Proteinzufuhr bewirkte im vorliegenden Versuch ein verlangsamtes Wachstum, wie es durch viele Untersuchungen bekannt ist (z. B. Mayer und Krauss, 1963; Krziwanek et al., 1978). Als Erklärung dafür wird verschiedentlich ein erhöhter Energieverbrauch für die Eliminierung des überschüssigen Stickstoffs herangezogen (z. B. Krziwanek et al., 1978). Aber auch eine reduzierte Futteraufnahme (z. B. Li und Anderson, 1982; Beverly et al., 1974; Weiss et al., 1981; Mercer et al., 1981), eine herabgesetzte Futterverwertung (Mayer und Krauss, 1963), Aminosäuren-Imbalancen (Li und Anderson, 1982) sowie Veränderungen im Stoffwechsel verschiedener Mineralstoffe (Li und Anderson, 1982; Weiss et al., 1981) bei hoher Proteinaufnahme sind in Betracht zu ziehen. Darüber hinaus zeigen die vorliegenden Ergebnisse, daß die durch Proteinüberschuß ausgelösten Wachstumsdepressionen zusätzlich bei mangelhafter Fe-Versorgung verstärkt auftreten.

Hämatologische Kriterien

Wird eine mangelhafte Fe-Versorgung durch homöostatische Regulation nicht mehr kompensiert, so werden die Funktionen des Eisens im Stoffwechsel beeinträchtigt. In diesem Zusammenhang häufig untersuchte Parameter sind der Hämoglobingehalt des Blutes und die Erythrozytenzahl (siehe Underwood, 1977). Eine Verringerung dieser Größen bei mangelhafter Fe-Versorgung zeigte sich auch bei den vorliegenden Untersuchungen, vor allem bei mittlerem und hohem Proteingehalt der Diät. Ein hoher Proteingehalt bewirkte bei mangelnder Fe-Zufuhr keine Verbesserung bei Hämoglobin und Erythrozytenzahl, ein Hinweis, daß bei Fe-Mangel die Utilisation von Eisen durch eine höhere Proteinzufuhr bei gegebener Proteinqualität nicht zusätzlich stimuliert wird, da möglicherweise andere Faktoren begrenzend wirken.

Bei niedrigem Proteingehalt war der Effekt einer mangelnden Fe-Versorgung sehr viel geringer, bzw. bei der Zahl der Erythrozyten pro Volumeneinheit konnte im Vergleich zu einer höheren Fe-Zufuhr kein Unterschied festgestellt werden. Caster und Doster (1979) konnten ebenfalls diese Zusammenhänge bei 10 gegenüber 20 % Casein in der Diät ermitteln. Dies könnte möglicherweise auf ein verringertes Blutvolumen bei unzureichender Proteinversorgung zurückzuführen sein (Benditt et al., 1946).

Dagegen war bei höherem Fe-Gehalt in der Diät der Hämoglobingehalt des Blutes bei gleichzeitig niedrigem Proteingehalt geringer als bei 25 bzw. 45 % Diät-Protein, wie auch aus einer Untersuchung von Krziwanek et al. (1978) hervorgeht. Unter der Annahme einer Verringerung des Blutvolumens infolge eines Proteinmangels dürfte die Erythropoese bzw. die

Hämoglobinsynthese stärker beeinträchtigt sein, als dies diese Parameter vorgeben. Für die Proteinmangelanämie wird die Abnahme der Erythropoietinsynthese als vorrangige Ursache angenommen (Ito und Reissmann, 1966; Singhal et al., 1982). Ergebnisse von Risse und Hock (1969) deuten jedoch darauf hin, daß vor Abnahme der Erythropoietinsynthese zunächst das hämatopoetische System nochmals aktiviert wird.

Eine sehr hohe Fe-Versorgung (625 ppm) konnte bei mittlerem Proteingehalt der Diät den Hämoglobingehalt nochmals erhöhen, ein Hinweis, daß bei gegebener Diät der Bedarf an Eisen bei einer Zulage von 25 % noch nicht voll gedeckt war. Normalerweise bewirkt nämlich eine Zufuhr über den Bedarf hinaus keine zusätzliche Steigerung eines Wirkungskriteriums (Simes et al., 1980; Kim et al., 1981). Die aus der Literatur bekannten Bedarfsangaben für wachsende Ratten schwanken zwischen 20 und 50 ppm Eisen (siehe Lin und Kirksey, 1976) in Abhängigkeit vor allem von der Diätzusammensetzung und des Versorgungszustandes. So war in Untersuchungen von Graßmann (1977) bei einer Casein-Stärke-Diät ein Fe-Gehalt von 20 ppm als suboptimal zu beurteilen. Bei einem hohen Proteingehalt von 45 % trat bereits bei einer Fe-Versorgung von 25 ppm ein höherer Hämoglobingehalt auf, der durch zusätzliches Fe nicht weiter gesteigert werden konnte.

Das mittlere korpuskuläre Zellvolumen war bei den vorliegenden Untersuchungen durch einen niedrigen Fe-Gehalt in der Diät nur geringfügig beeinträchtigt. Hierfür liegen in der Literatur unterschiedliche Ergebnisse vor (z. B. Lin und Kirksey, 1976; Graßmann, 1976). Diese Unterschiede dürften auf das Ausmaß der Depletion an Eisen in Abhängigkeit von Dauer, anderen Diätkomponenten, Alter usw. zurückzuführen sein. Die Ergebnisse zeigen vielmehr eine starke Abhängigkeit des MCVs vom Proteingehalt der Diät. Ein verringertes MCV bei niedrigem Diät-Proteingehalt wurde ebenfalls in Untersuchungen von Caster und Doster (1979) festgestellt, während Krziwanek et al. (1978) bei niedrigem Proteingehalt der Diät ein höheres MCV feststellten. Auffallend ist das reduzierte MCV bei sehr hohem Fe-Gehalt und einem Proteingehalt von 25 % im Vergleich zu einer bedarfsgerechten Fe-Konzentration. Eine Abnahme des MCV bei sehr hoher Fe-Zufuhr zeigt sich auch in Untersuchungen von Caster und Doster (1979). Bei höherem Proteingehalt war dieser Effekt jedoch nicht zu beobachten. Aus den Veränderungen bei Hämoglobin und MCV resultiert für die MCHC nur eine geringe Verminderung bei niedrigem Proteingehalt, während das MCH erheblich vermindert war. Dies deutet auf eine enge Koppelung zwischen Größe und Hämoglobingehalt eines Erythrozyten, aber auch auf eine verminderte Erythropoese und weniger auf verminderte Fe-Verwertung für die Hämoglobinsynthese infolge niedriger Proteinversorgung hin. Dagegen waren die MCHC und das MCH bei mangelnder Fe-Versorgung erwartungsgemäß reduziert. Demgegenüber stellten Krziwanek et al. (1978) bei einem Proteingehalt von 5 % in der Diät ein erhöhtes MCH und keine Veränderung bei der MCHC im Vergleich zu einem Proteingehalt von 25 % fest. Dies ist durch die stark reduzierte Zahl der Erythrozyten bei dieser Untersuchung zu erklären.

Insgesamt zeigen die vorliegenden Ergebnisse, daß bei mangelnder Proteinzufuhr diese sich in erster Linie auf Lebendmasse und hämatologi-

sche Parameter auswirkt, während sich bei einer bedarfsgerechten bzw. erhöhten Proteinzufuhr eine mangelnde Fe-Versorgung sehr stark manifestiert. Sowohl anhand der Lebendmasse als auch anhand der hämatologischen Parameter ließen sich bei einer erhöhten Zufuhr von 625 ppm Fe keine Beeinträchtigungen aufzeigen. Von den meisten Spezies ist nämlich bekannt, daß sie eine relativ hohe Menge an Eisen tolerieren (siehe National Academy of Science, 1980). Auch Kim et al. (1981) konnten diese hohe Eisentoleranz bei unterschiedlicher Cu-Versorgung feststellen.

Literatur

- Benditt, E. P., R. L. Straube, E. M. Humphreys: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **62**, 189 (1946).
- Beverly, M., D. Paehl, G. H. Anderson: *J. Nutr.* **104**, 563 (1974).
- Caster, W. O., J. M. Doster: *Int. J. Vit. Nutr. Res.* **49**, 215 (1979).
- Forbes, E., R. Swift, A. Black, O. Kalenberg: *J. Nutr.* **10**, 461 (1935).
- Graßmann, E., M. Kirchgeßner: *Zbl. Vet. Med. A* **20**, 481 (1973).
- Graßmann, E.: *Zbl. Vet. Med. A* **23**, 292 (1976).
- Graßmann, E.: *Zbl. Vet. Med. A* **24**, 817 (1977).
- Halac, E. Jr.: *Amer. J. Clin. Nutr.* **11**, 574 (1962).
- Hellige, F. A.: Druckschrift Erymat BA-6904, Do, 1 (1969).
- Ito, K., K. R. Reissmann: *Blood* **27**, 343 (1966).
- Kim, J. J., E. Graßmann, M. Kirchgeßner: *Zbl. Vet. Med. A* **28**, 516 (1981).
- Kirchgeßner, M., E. Graßmann, J. Krippel, H. L. Müller: *Züchtungskunde* **43**, 336 (1971).
- Kirchgeßner, M., H. L. Müller, E. Weigand, E. Graßmann: *Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittelkde.* **34**, 3 (1974a).
- Kirchgeßner, M., E. Graßmann, F. X. Roth, D. Roth-Maier: *Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittelkde.* **34**, 35 (1974b).
- Kirchgeßner, M., A. M. Reichlmayr-Lais, H.-P. Roth: *Int. Workshop: Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology* (Neuherberg, FRG 1982).
- Krzywanek, S. von, E. Graßmann, M. Kirchgeßner: *Arch. Tierernährg.* **28**, 99 (1978).
- Li, E. T. S., H. Anderson: *J. Nutr.* **112**, 717 (1982).
- Lin, W. J., A. Kirksey: *J. Nutr.* **106**, 543 (1976).
- Mayer, J., R. M. Kraus: *Nature* **200**, 1213 (1963).
- Mercer, L. P., D. F. Watson, J. S. Ramlet: *J. Nutr.* **111**, 1117 (1981).
- National Academy of Science: *Mineral Tolerance of Domestic Animals* (Washington D.C. 1980).
- Pallauf, J., M. Kirchgeßner: *Internat. Z. Vit. Ernährungsforsch.* **41**, 543 (1971).
- Risse, S., A. Hock: *Acta biol. med. germ.* **22**, 61 (1969).
- Simes, M. A., C. Refino, P. R. Dallman: *Amer. J. Clin. Nutr.* **33**, 570 (1980).
- Singhal, V., S. K. Sood, M. Mathur: *Ind. J. Exp. Biol.* **19**, 577 (1981).
- Tulp, O. L., E. S. Horton: *J. Nutr.* **111**, 1145 (1981).
- Underwood, E.: *Trace Element in Human and Animal Nutrition*, 4. Aufl. Academic Press, New York, San Francisco (London 1977).
- Warnick, C. T., H. M. Lazaruo: *J. Nutr.* **112**, 293 (1982).
- Weigand, E., M. Kirchgeßner: *Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittelkde.* **39**, 84 (1977).
- Weiss, R. E., A. Gorn, St. Dux, M. E. Nimni: *J. Nutr.* **111**, 804 (1981).

(Eingegangen am 13. September 1982)

Für die Verfasser:

Prof. Dr. M. Kirchgeßner, Institut f. Ernährungsphysiologie in Weihenstephan der Techn. Universität München, 8050 Freising-Weihenstephan