



DOI 10.2376/1439-0299-2022-22

Klinik für Rinder der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, Deutschland¹; Variationsstatistik, Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel, Deutschland²; Stiftung Naturschutz Schleswig-Holstein, Molfsee, Deutschland³; Professur für Nutztierwissenschaften und Umweltwirkungen, Hochschule Rhein-Waal, Kleve, Deutschland⁴; Forschungsschwerpunkt Nachhaltige Ernährungssysteme – From Farm to Function, Hochschule Rhein-Waal, Kleve, Deutschland⁵

Peer-reviewed | Eingegangen: 27.10.2022 | Angenommen: 15.05.2023 | Veröffentlicht: 22.06.2023

Untersuchungen zur potenziellen Pyrrolizidinalkaloid-Belastung von Galloway-Rindern in ganzjähriger Weidehaltung auf Flächen mit Jakobskreuzkraut (*Senecio jacobaea* L.)

Agnes Fiedler¹, Martina Hoedemaker¹, Mario Hasler², Aiko Huckauf³, Steffi Wiedemann^{4,5}

Korrespondenzadresse: steffi.wiedemann@hochschule-rhein-waal.de

Zusammenfassung Jakobskreuzkraut (JKK) (*Senecio jacobaea* L.) wird regelmäßig für tödlich verlaufende Vergiftungen bei Weidetieren verantwortlich gemacht. Die in der Pflanze enthaltenen Pyrrolizidinalkaloide (PAs) werden in der Leber zu Pyrrol-Verbindungen umgebaut, die in Abhängigkeit von Dosis und Dauer der Aufnahme akute oder chronische Intoxikation auslösen können. Neben den Aspekten Tiergesundheit und Tierschutz muss bei lebensmittelliefernden Tieren ein möglicher Übertritt von PAs in essbare Gewebe in Betracht gezogen werden. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden Daten zur potenziellen Belastung ganzjährig weidender Galloway-Rinder auf schleswig-holsteinischen Weiden mit und ohne JKK-Bewuchs verglichen. Die PA-Gehalte von Gewebeproben von Leber, Muskel und Fett wurden mittels LC-MS/MS untersucht. Zusätzlich wurden die Lebern histologisch untersucht und Blutparameter bestimmt. Die PA-Gehalte sämtlicher Proben lagen unter der Nachweisgrenze. Auch in der histologischen Untersuchung konnten keine typischen PA-assoziierten Pathologien (Zirrhose, Nekrose, tumoröse Veränderungen, Zellteilungsstörungen) nachgewiesen werden. Zahlreiche Tiere wiesen Anzeichen von portaler Fibrose, reaktiv-reparativen Veränderungen und lymphozytärer Hepatitis auf, jedoch waren diese Veränderungen in beiden Gruppen (JKK/Kontrolle) gleichermaßen präsent. Auch für die ermittelten Blutparameter konnte statistisch kein Einfluss durch das Weiden auf JKK-Flächen gezeigt werden. Die Ergebnisse zeigen, dass bei Robustrindern in einer intakten Herdenstruktur das Beweiden von Flächen mit dichtem JKK-Bewuchs im Vergleich zum Beweiden von Flächen ohne JKK-Bewuchs zu keinen zusätzlichen gesundheitlichen Beeinträchtigungen führt und die Tiere ihren Energiehaushalt auch auf diesen Weiden ausreichend decken konnten.

Schlüsselwörter Tiergesundheit, Sicherheit in der Lebensmittelkette, PAs in Fleisch, JKK auf Weiden

*Studies on the potential pyrrolizidine alkaloid load of Galloway cattle in year-round grazing on areas with tansy ragwort (*Senecio jacobaea* L.)*

Summary The native tansy ragwort (*Senecio jacobaea* L.) is regularly under suspicion to be the causative agent of poisoning in livestock. The pyrrolizidine alkaloids produced by the plant are metabolised in the liver to form toxic pyrroles, which may lead to both acute and chronic symptoms of intoxication depending on the amount and period of intake. Besides the aspects of animal health, a potential passage of PAs into the food chain must be evaluated. In this study, data on the potential exposure of year-round grazing Galloway cattle on pastures in Schleswig-Holstein with and without ragwort growth were compared. Tissue samples of liver, muscle and fat were collected for PA-analysis by LC-MS/MS. In addition, livers underwent histological examination and blood samples were collected at the time of slaughter. In all tissue samples tested, PA-content was below the limits of detection. The results of the histological examination of livers did not indicate any of the typical PA-associated signs (cirrhosis, necrosis, tumoral lesions, mitotic dysfunctions). Though a high number of animals displayed signs of portal fibrosis, reactive/reparative changes and lymphocytic hepatitis, these changes were equally distributed in both groups (ragwort/control). For the analysed blood parameters, no statistical differences could be shown between control group and ragwort group. The results show that, for robust cattle in an intact herd structure, grazing on areas with dense ragwort growth does not lead to additional health impairments compared to grazing on areas without ragwort growth and that the animals are able to cover their energy requirements sufficiently on these pastures.

Keywords animal health, safety in the food chain, PAs in meat, pastures with tansy ragwort

Einleitung

Einige der geschätzt über 6.000 Pflanzenarten, die Pyrrolizidinalkaloide (PAs) als sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe bilden, gehören zu den weltweit bedeutendsten Giftpflanzen für Tiere und Menschen (Bode und Dong 2015). Die über 660 bislang beschriebenen PAs werden von den Gewächsen als Verteidigungsmechanismus gegen Fraßfeinde produziert. Das in vielen Gebieten Europas heimische Jakobskreuzkraut (JKK) – auch Jakobs-Greiskraut (*Senecio jacobaea* L. syn. *Jacobaea vulgaris* Gaertn.) genannt, enthält, in Abhängigkeit von der Jahreszeit und den untersuchten Pflanzenteilen, unterschiedlich hohe Gehalte der PAs (z. B. Seneciphyllin, Senecionin, Jacozin, Jacobin, Jacolin und Jaconin) und der jeweils korrespondierenden N-Oxide (Crews und Driffield 2009, Carvalho und Macel 2014, Avula et al. 2015). Seit Jahrzehnten ist bekannt, dass PAs nach der oralen Aufnahme von JKK durch Tiere oder Menschen in der Leber zu alkylierenden Pyrrolderivaten metabolisiert werden, die hepatotoxische, mutagene und karzinogene Eigenschaften besitzen (Schoental 1968, Allgaier und Franz 2015). Insbesondere Pferde und Rinder scheinen hierbei für akute und chronische Intoxikationen empfänglich zu sein (Cortinovis und Calloni 2015). In den letzten Jahren wird eine zunehmende Ausbreitung des JKK auf Grünland, Brachflächen und Straßenböschungen in verschiedenen Gebieten Deutschlands beobachtet (MLR Baden-Württemberg 2009, Huckauf et al. 2017). Als Ursachen dieser Verbreitung werden unter anderem der Klimawandel, die natürliche Populationsdynamik des JKK und Fehler in der Grünland-

bewirtschaftung diskutiert. Im Zuge dessen wird auch die ökologische Weidehaltung von Robustrindern auf Naturschutzflächen mit JKK-Bewuchs kritisch beleuchtet. Bei Rindern führen die in der Pflanze enthaltenen Bitterstoffe und ein mutmaßliches „Lernverhalten“ innerhalb der Herde vermutlich dazu, dass die frischen Pflanzenteile gemieden werden. Eine Aufnahme durch weidende Tiere könnte dennoch unbeabsichtigt als Beifraß mit benachbarten Futterpflanzen oder durch Futterknappheit zustande kommen. Neben den Aspekten der Tiergesundheit wird auch ein möglicher Übergang von PAs in das Fleisch der lebensmittelliefernden Tiere und eine damit einhergehende nicht auszuschließende Gefährdung des Verbrauchers diskutiert.

Das Ziel der vorliegenden Feldstudie war daher die vergleichende Untersuchung des Gesundheitszustandes und der PA-Gehalte in essbaren Geweben von Galloway-Rindern, die ganzjährig auf Weiden mit bzw. ohne Bewuchs von JKK gehalten wurden.

Material und Methoden

Tiere

Es wurden 26 ganzjährig extensiv gehaltene Rinder der Rasse Galloway (26 bis 86 Monate alt), die auf fünf verschiedenen Flächen in Schleswig-Holstein geweidet hatten, in die Studie einbezogen. Zwei der Flächen waren durch regelmäßige vorhergehende Kartierungen bereits für ihren JKK-Aufwuchs bekannt. Im Oktober 2015 wurde der JKK-Bewuchs zudem mithilfe eines Holzrahmens (1 m²) an 20 zufällig ausgewählten Stellen auf der jeweiligen Fläche beurteilt. Hierzu wurden blühende/verblühte Pflanzen und Rosetten ohne sichtbares Blütenstadium gezählt. Die drei Flächen, von denen kein JKK-Bewuchs aus den letzten Jahren bekannt war und auf denen zum Zeitpunkt der Begehung keine blühenden/verblühten Pflanzen und Rosetten nachweisbar waren, wurden als Kontrollflächen bezeichnet. Die zwei Flächen, von denen ein JKK-Bewuchs bekannt war und auf denen blühende/verblühte Pflanzen und Rosetten zum Zeitpunkt der Begehung zu finden waren (5,45 ± 2,54 bzw. 0,15 ± 0,36 JKK-Pflanzen/m²), wurden in der Studie als JKK-reiche Flächen betrachtet. Rinder von diesen JKK-reichen Flächen hatten vor dem Zeitpunkt der Schlachtung etwa vier Jahre lang auf den Weiden gestanden (potenzielles Angebot von JKK) und wurden der Gruppe JKK-reich zugeordnet (N = 12 ♀). Tiere aus der Kontrollgruppe (N = 12 ♂; N = 2 ♀), hatten zu keinem Zeitpunkt auf JKK-reichen Flächen

TAB. 1: Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) der ermittelten Blutparameter zum Zeitpunkt der Schlachtung von Tieren, die auf Flächen ohne Jakobskreuzkraut (Kontrolle; N = 14) und mit Bewuchs von Jakobskreuzkraut (JKK-reich; N = 12) geweidet hatten

| | Kontrolle ¹ | | JKK-reich | |
|-------------------|------------------------|------|------------|------|
| | Mittelwert | SD | Mittelwert | SD |
| AST [U/L] | 96,2 | 55,9 | 76,8 | 17,4 |
| γ-GT [U/L] | 23,3 | 18,1 | 23,4 | 7,7 |
| GLDH [U/L] | 21,3 | 11,0 | 11,8 | 3,2 |
| Chol [mmol/L] | 3,3 | 0,8 | 4,3 | 1,0 |
| HST [mmol/L] | 3,1 | 0,8 | 3,3 | 1,3 |
| K [mmol/L] | 4,5 | 2,0 | 4,7 | 0,4 |
| β-Carotin [µg/dL] | 164,3 | 74,2 | 200 | 28,9 |
| GEW [g/L] | 64,9 | 3,0 | 67,7 | 5,8 |
| Gbi [µmol/L] | 4,1 | 1,7 | 4,2 | 1,2 |

¹ N = 12 für die Analyse von Kalium, Gesamtbilirubin sowie β-Carotin aufgrund von Hämolyse

TAB. 2: Kovarianzanalyse der Serumparameter von Tieren zum Zeitpunkt der Schlachtung, die auf Flächen ohne Jakobskreuzkraut (Kontrolle; N = 14) und mit Bewuchs von Jakobskreuzkraut (JKK-reich; N = 12) geweidet hatten

| | Intercepts (Absolutglieder) | | p-Wert Gruppe | Alter (Anstieg) | p-Wert Alter |
|---------------------------------|-----------------------------|-----------|---------------|-----------------|--------------|
| | Kontrolle | JKK-reich | | | |
| Aspartat-Aminotransferase [U/l] | 85,5 | 84,9 | 0,97 | -0,12 | 0,85 |
| γ-Glutamyltransferase [U/l] | 19,0 | 16,9 | 0,78 | 0,10 | 0,73 |
| Glutamatdehydrogenase [U/l] | 15,25 | 9,48 | 0,45 | 0,09 | 0,70 |
| Cholesteroll [mmol/l] | 3,01 | 3,71 | 0,45 | 0,01 | 0,76 |
| Harnstoff [mmol/l] | -0,06 | -0,53 | 0,61 | 0,07 | 0,003* |
| Kalium [mmol/l] | 5,03 | 4,17 | 0,24 | 0,01 | 0,74 |
| β-Carotin [µg/dl] | 184 | 185 | 0,98 | 0,22 | 0,86 |
| Gesamteiweiß [g/l] | 59,4 | 57,1 | 0,66 | 0,15 | 0,36 |
| Gesamtbilirubin [µmol/l] | 3,59 | 3,13 | 0,79 | 0,02 | 0,80 |

* signifikant (Signifikanzniveau p < 0,05)

geweidet. Eine Beobachtung des Fressverhaltens auf der Weide fand nicht statt. Alle Tiere wurden einmalig nach dem Absetzen und nachfolgend nach individuellem Bedarf entwurmt (Cydectin-Triclamox). Als alleinige Ergänzung zum Aufwuchs auf der Weide stand den Tieren Mineralfutter zur Verfügung (16 % Ca, 4 % P, 10 % Na, 3 % Mg). Alle Rinder wurden regulär geschlachtet und der Fleischschau unterzogen.

Probengewinnung und -untersuchung

Im Rahmen des Entblutungsschnittes wurde von allen Tieren Blut in Serumröhrchen (SARSTEDT S Monovette 9 ml, 92 x 16 mm, Serum – SARSTEDT Nümbrecht) aufgefangen und im Labor bei 3.500 U/min für 10 min zentrifugiert. Das Serum wurde in 2 ml Eppendorf- Gefäße überführt und bei -18 °C tiefgefroren. Im klinisch-chemischen Labor der Klinik für Rinder (Tierärztliche Hochschule Hannover) erfolgte die photometrische Bestimmung von Aspartat-Aminotransferase (AST; Referenzwert < 50 U/l), γ Glutamyltransferase (GGT; < 20 U/l), Glutamatdehydrogenase (GLDH; < 8 U/l), Cholesteroll (Chol; < 3mmol/L), Harnstoff (Hst; < 8 mmol/L), Gesamteiweiß (GEW; 60–80 g/L) und Gesamtbilirubin (Gbi; < 7 mmol/L). Kalium (Referenzwert 3,5–4,5 mmol/L) wurde mittels ionenselektiver Elektrode gemessen (Pentra 400 ABX Diagnostics – HORIBA, Oberursel). Der β -Carotin-Gehalt (Referenzwert > 200 μ g/dL) wurde optisch mittels semiquantitativem Farbttest ermittelt (DSM, Niederlande). Als Referenzwerte wurden die Referenzwerte für Rinderblut des Labors der Klinik für Rinder der Tierärztlichen Hochschule Hannover angenommen.

Beurteilung des Stauungsgrades der Lebern und histologische Untersuchung

Im Rahmen der Fleischuntersuchung wurden alle Lebern einer eingehenden makroskopischen Beurteilung unterzogen. Stauungserscheinungen der Gallengänge wurden nach subjektiven Schweregraden eingeteilt (keine Stauung/gering- bis mittelgradige Stauung/hochgradige Stauung). Für die histologische Untersuchung wurden aus einem unauffälligen Areal jeder schlachtfrischen Leber (*Lobus hepatis sinister* bzw. *Lobus quadratus*) jeweils drei ca. 2,5 x 2,5 x 2,5 cm große Teilproben entnommen und in 4%ige Formalin-Lösung überführt. Nach Fixierung aller entnommenen Leberproben in 4%igem Paraformaldehyd folgte eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) bzw. Azan-Färbung in Anlehnung an Mulisch und Welsch (2015). Anschließend wurden die Präparate am Institut für Pathologie (Tierärztliche Hochschule Hannover) mikroskopisch auf strukturelle und funktionelle Veränderungen untersucht. Histopathologische Veränderungen wurden in dreizehn Kategorien eingeteilt (Tab. 3).

Kotproben und koproscopische Untersuchung

Kotproben aus dem Rektum der Tiere wurden nach der Schlachtung genommen. Diese wurden mittels des Sedimentationsverfahrens, Flotationsverfahrens und das Auswanderungsverfahren untersucht (Thienpont et al. 1990, Deplazes et al. 2012).

LC-MS/MS

Gewebeprobe (je ca. 15 g) aus Leber (*Lobus hepatis sinister*), retroperitonealem Nierenfett und Unterzungmuskulatur wurden bis zur weiteren Untersuchung bei

TAB. 3: Histologische Ergebnisse und Standardabweichung (SD) der mikroskopischen Untersuchung struktureller und funktioneller Veränderungen von Lebergewebe von Tieren, die auf Flächen ohne Jakobskreuzkraut (Kontrolle; N = 14) und mit Bewuchs von Jakobskreuzkraut (JKK-reich; N = 12) geweidet hatten

| | | Tiere ohne Ausprägung (% der Tiere) | Tiere mit Nachweis (% der Tiere) | SD | p-Wert ¹ |
|---------------------------------------|-----------|-------------------------------------|----------------------------------|---------|---------------------|
| Läppchenarchitektur verändert | Kontrolle | 12 (86) | 2 (14) | 0,36 | 1 |
| | JKK-reich | 11 (92) | 1 (8) | 0,29 | |
| Lymphozytäre Hepatitis | Kontrolle | 5 (36) | 9 (64) | 0,5 | 0,39 |
| | JKK-reich | 2 (17) | 10 (83) | 0,39 | |
| Eosinophile Hepatitis | Kontrolle | 12 (86) | 2 (14) | 0,36 | 0,63 |
| | JKK-reich | 9 (75) | 3 (25) | 0,45 | |
| Lymphozytär-plasmazelluläre Hepatitis | Kontrolle | 13 (93) | 1 (7) | 0,27 | 1 |
| | JKK-reich | 12 (100) | 0 (0) | < 0,001 | |
| Histozytär-plasmazelluläre Hepatitis | Kontrolle | 14 (100) | 0 (0) | < 0,001 | 1 |
| | JKK-reich | 12 (100) | 0 (0) | < 0,001 | |
| Lymphangiektasien | Kontrolle | 12 (86) | 2 (14) | 0,36 | 0,63 |
| | JKK-reich | 9 (75) | 3 (25) | 0,45 | |
| Portale Fibrose | Kontrolle | 2 (14) | 12 (86) | 0,36 | 0,48 |
| | JKK-reich | 0 (0) | 12 (100) | < 0,001 | |
| Nekrosen | Kontrolle | 14 (100) | 0 (0) | < 0,001 | 1 |
| | JKK-reich | 12 (100) | 0 (0) | < 0,001 | |
| Arteriitis | Kontrolle | 14 (100) | 0 (0) | < 0,001 | 1 |
| | JKK-reich | 12 (100) | 0 (0) | < 0,001 | |
| Cholangitis | Kontrolle | 14 (100) | 0 (0) | < 0,001 | 1 |
| | JKK-reich | 12 (100) | 0 (0) | < 0,001 | |
| Reaktiv-reparative Veränderungen | Kontrolle | 2 (14) | 12 (86) | 0,36 | 0,48 |
| | JKK-reich | 0 (0) | 12 (100) | < 0,001 | |
| Anisokaryose | Kontrolle | 12 (86) | 2 (14) | 0,36 | 1 |
| | JKK-reich | 10 (83) | 2 (17) | 0,39 | |
| Gallengangsproliferation | Kontrolle | 2 (14) | 12 (86) | 0,36 | 0,48 |
| | JKK-reich | 0 (0) | 12 (100) | < 0,001 | |

¹ Signifikanz bei p < 0,05

-18 °C gelagert. Aufbereitung und LC-MS/MS (ThermoScientific TSQ Quantum Ultra) auf 30 PA und deren N-Oxide erfolgte durch Intertek Food Services GmbH, Bremen, Deutschland (Tab. 5). Muskel- und Leberproben wurden nach einem modifizierten QuEChERS-Verfahren (Anastassiades et al. 2003) bearbeitet (Intertek Food Services GmbH), Fettproben entsprechend der RIKILT-Methode von Mulder und López Sánchez (Mulder et al. 2015).

Statistische Auswertung

Die Auswertung erfolgte mithilfe der Statistiksoftware R Version 3.3.0 (2016). Serumparameter wurden unter Annahme von Normalverteilung und Homoskedastizität mittels Kovarianzanalyse (Ancova) untersucht (Cochran 1957). Die Gruppe der Tiere (JKK-reich und Kontrolle) wurde als fixer Effekt und das Alter als Kovariable in das Modell inkludiert. Das Geschlecht und die Fläche wurden als zufällige Einflussgrößen in die Auswertung aufgenommen (Laird und Ware 1982, Verbeke und Molenberghs 2000). Für jeden Parameter wurde zunächst ebenfalls der Interaktionseffekt von Alter und Gruppe als fixer Effekt in das Modell einbezogen. Da bei keinem der untersuchten Blutparameter eine Wechselwirkung zwischen Alter und Gruppe festgestellt wurde, wurde das finale ANCOVA Modell ohne Wechselwirkungseffekte berechnet. Für die Serumparameter wurden jeweils die beiden Intercepts (Absolutglieder) für die Gruppen JKK-reich und Kontrolle bestimmt sowie der durchschnittliche Anstiegsparameter des Alters auf Signifikanz überprüft. Histopathologische Ergebnisse wurden mittels Exaktem Test nach Fisher (Fisher 1935) analysiert. Für die Parameter Alter und Schlachtgewicht wurden der Zweistichproben-t-Test durchgeführt (Student 1908, Welch 1938). Parasitologische Ergebnisse wurden mittels Chi-Quadrat-Test (Pearson 1900) bzw. bei Zellenhäufigkeiten < 5 mittels Exaktem Test nach Fisher (Fisher 1935) analysiert. Für alle statistischen Modelle wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ angenommen.

Ergebnisse

Alle Tiere wurden nach amtlicher Fleischuntersuchung als genusstauglich bewertet und der Lebensmittelkette zugeführt. Mit einem Altersdurchschnitt von 68,4 Monaten ($SD \pm 11,2$; $\sigma^2 = 137,5$) waren die JKK-Tiere signifikant älter [$t(24) = 7,41$ $p < 0,01$] als die Kontrolltiere (35,5 Monate, $SD \pm 10,5$; $\sigma^2 = 119,0$). JKK-Tiere hatten ein mittleres Schlachtgewicht von 259 kg ($SD \pm 34$). Sie waren damit nicht signifikant schwerer als die Kontrolltiere (246 kg, $SD \pm 21$; $\sigma^2 = 477$). Alle JKK-Tiere waren weiblich. Bei den Blutwerten (Tab. 1) konnte kein signifikanter Unterschied zwischen JKK-Tieren und Kontrollgruppe gezeigt werden (Tab. 2). Im Blut zweier Tiere der Kontrollgruppe konnten aufgrund von Hämolyse γ -Glutamyltransferase, Kalium, β -Carotin und Gesamtbilirubin nicht bestimmt werden. Harnstoff war als einziger Parameter bei allen Tieren im Normbereich ($< 8,0$ mmol/l). Die Lebern wiesen bei der äußerlichen Adspektion in zwölf ($N = 3$ Kontrolle, $N = 9$ JKK-reich) Fällen eine hochgradige, in sechs ($N = 3$ Kontrolle, $N = 3$ JKK-reich) Fällen eine gering- bis mittelgradige Gallenstauung auf. Alle Tiere von JKK-reichen Flächen (100 %) und sechs Tiere von Kontrollflächen (42 %) zeigten

eine mehr oder weniger ausgeprägte makroskopische Gallengangsstauung im Anschnitt. Tiere von JKK-reichen Flächen hatten im Verhältnis zu den Kontrolltieren signifikant mehr makroskopisch erfassbare, verdickte und gestaute Gallengänge ($p = 0,002^*$). Bei keinem der Tiere wurden jedoch Veränderungen der Gallenblase beobachtet.

Histologisch wurden vor allem reaktiv-reparative sowie fibrotische Veränderungen und Gallengangsproliferationen in den repräsentativen Leberproben festgestellt ($N = 12$ Kontrolle, $N = 12$ JKK-reich, Tab. 3). Bei insgesamt vier Tieren waren Hinweise auf Anisokaryose bzw. Anisozytose sichtbar ($N = 2$ Kontrolle, $N = 2$ JKK-reich). Veränderungen der Läppchenarchitektur wurden vereinzelt gefunden ($N = 2$ Kontrolle, $N = 1$ JKK-reich). Für keine der 13 histologisch gefundenen Veränderungen ergab sich ein statistisch signifikanter Einfluss durch das Weiden auf JKK-reichen Flächen (Tab. 3). In insgesamt vier Fällen deutete das histologische Bild auf eine mögliche toxische Belastung ($N = 2$ Kontrolle, $N = 2$ JKK-reich) hin, allerdings fanden sich bei den zwei Tieren aus der Gruppe „JKK-reich“ keine Hinweise auf das typischerweise durch eine chronische PA-Belastung hervorgerufene Befundbild, welches durch teils hämorrhagische Nekrosen, Megalozytose der Hepatozyten, Fibrose/Zirrhose, Gallengangproliferation sowie die Veno-okklusive Lebererkrankung mit Verschluss der kleinen Lebervenen gekennzeichnet ist (Stegelmeyer et al. 1999). Bei fünf Lebern ($N = 3$ Kontrolle, $N = 2$ JKK-reich) wurden makroskopisch sichtbare fokale Veränderungen festgestellt (max. 3 cm x 3 cm), welche gesondert histologisch untersucht wurden. Es zeigten sich zusätzliche histopathologische Inselbefunde, die nicht in die statistische Auswertung mit einbezogen wurden: histozytär-plasmazelluläre Hepatitis bei einem der Kontrolltiere, Nekrosen bei zwei Kontrolltieren, eosinophile Arteriitis bei zwei Kontrolltieren, eosinophile Cholangitis bei einem Kontrolltier).

Die Ergebnisse der koproskopischen Untersuchung sind in Tabelle 4 dargestellt. Bei sieben der 14 Kontrolltiere und bei sechs der zwölf JKK-reichen Tiere konnte ein Befall mit dem Großen Leberegel (*Fasciola hepatica*) festgestellt werden. Statistisch unterschieden sich die Kontrolltiere in Bezug auf den Leberegelbefall nicht von den JKK-Tieren (p -Wert = 1). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass kein statistisch nachweisbarer Zusammenhang der Variablen „Gallengänge gestaut/nicht gestaut“ und „Nachweis/kein Nachweis von Trematodeneiern (*Fasciola hepatica*)“ bestand (Exakter Test nach Fischer, $p = 1$). Gleichwohl konnten bei Kontrolltieren häufiger Magen-Darm-Strongyloiden festgestellt werden (Tab. 4).

In allen Gewebeproben lagen die PA-Gehalte unter den jeweiligen Nachweisgrenzen (Tab. 5).

Diskussion

Im Rahmen dieses Feldversuchs wurde der potenzielle Einfluss der mehrjährigen Beweidung von Flächen mit hohem Anteil an JKK auf pathologische Veränderungen der Leber, auf klinische Blutparameter und PA-Gehalte in essbaren Geweben von extensiv gehaltenen Rindern untersucht. Um die typischen Umwelt- und Lebensbedingungen der in Deutschland gehaltenen Galloway-Robustrinder zu berücksichtigen, hatte eine möglichst

realitätsnahe Haltung Vorrang. Es handelte sich um natürliche Herdenstrukturen mit wirtschaftlichem Ziel, sodass die Auswahl der Weidetiere in der Anzahl und der Einteilung (Geschlecht, Alter) eingeschränkt war. So ist es sicher kritisch zu betrachten, dass alle JKK-Tiere weiblich waren. Gleichwohl ist aus ernährungsphysiologischer Sicht nicht von einem Unterschied in der Selektion des JKK auszugehen. Der insgesamt höhere Altersdurchschnitt der JKK-Tiere (68,4 Monate) im Vergleich zu den Kontrolltieren (35,5 Monate) kann als Vorteil gesehen werden für die Ziele dieser Arbeit. Zwar konnte das Fressverhalten der Tiere in der vorliegenden Studie nicht untersucht werden; sollten die JKK-Tiere jedoch tatsächlich das JKK regelmäßig über mehrere Jahre gefressen haben, so hätte sich die akkumulierte Schädigung von PAs mit großer Wahrscheinlichkeit

auch deutlich gezeigt. Trotzdem die beim Rind in vitro gemessene Pyrrol-Bildungsrate gering ist (Shull et al. 1976), zählen Rinder zu den relativ empfänglichen Spezies mit einer chronisch-letalen Dosis von 2,5 mg Gesamt-PA/kg Körpergewicht/Tag ermittelt über einen Zeitraum von 18 Tagen (Johnson 1978) bzw. von 5 % im Verhältnis zum Körpergewicht (Cheeke und Pierson-Goegeer 1983). Des Weiteren wurde im Vorfeld davon ausgegangen, dass ein Teil der Tiere mit dem Großen Leberegel (*Fasciola hepatica*) befallen sein würde oder zumindest Spuren einer durchgemachten Infektion zeigen könnte. Rinder zählen zu den wichtigsten Endwirten des Parasiten und in Schleswig-Holstein muss von einer relativ hohen Prävalenz (50 %) ausgegangen werden (Deplazes et al. 2012). Die parasitologische Untersuchung sollte daher zusätzliche Aufschlüsse bei

TAB. 4: Vergleichende Darstellung der Ergebnisse der koproskopischen Untersuchung zwischen Tieren, die auf Flächen ohne Jakobskreuzkraut (Kontrolle; N = 14) und mit Bewuchs von Jakobskreuzkraut (JKK-reich; N = 12) geweidet haben

| | Kontrolle ¹ | JKK-reich ¹ | p-Wert Fisher's exact Test ² | Chi-Quadrat-Test ² |
|---|------------------------|------------------------|---|--|
| <i>Fasciola hepatica</i> (Großer Leberegel) | 50 % (n = 7) | 50 % (n = 6) | – | $\chi^2(1, n = 26) = 0,000, p = 1$ |
| Magen-Darm-Strongyliden | 64 % (n = 9) | 25 % (n = 3) | – | $\chi^2(1, n = 26) = 4.013, p = 0,045$ |
| Kokzidien/ <i>Eimeria</i> spp. | 43 % (n = 6) | 25 % (n = 3) | 0,429 | – |
| <i>Moniezia</i> spp. | 0 % | 0 % | – | – |
| <i>Trichuris ovis</i> | 0 % | 0 % | – | – |
| <i>Dictyocaulus viviparus</i> (Großer Lungenwurm) | 7 % (n = 1) | 0 % | 1 | – |

¹ Die Prozentangaben beziehen sich auf die jeweilige Gruppe.

² Darstellung der Ergebnisse des jeweils durchgeführten statistischen Tests zum Nachweis der Unabhängigkeit der Variablen „Parasitennachweis“ und „JKK-reich/Kontrolle“

TAB. 5: Bestimmungsgrenzen (Dezember 2015) für die untersuchten Pyrrolizidinalkaloide (PAs) in µg/kg Frischgewebe

| Substanz | Bestimmungsgrenzen [µg/kg] | | | Standardsubstanz Hersteller |
|----------------------|----------------------------|------|-------|-----------------------------------|
| | Muskel | Fett | Leber | |
| Echimidin | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab ¹ |
| Echimidin-N-oxid | 0.25 | 0.25 | 0.5 | ROTICHROM® HPLC Roth ² |
| Erucifolin | 2 | 0.5 | 2 | ROTICHROM® HPLC Roth |
| Erucifolin-N-oxid | 2 | 1 | 3 | ROTICHROM® HPLC Roth |
| Europin | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Europin-N-oxid | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Heliotrin | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Heliotrin-N-oxid | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Intermedin | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Intermedin-N-oxid | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Jacobin | 2 | 0.5 | 2 | Phytolab |
| Jacobin-N-oxid | 2 | 0.5 | 3 | ROTICHROM® HPLC Roth |
| Jacolin | 0.5 | 0.25 | 1 | k. A. |
| Jaconin | 2 | 1 | 2 | k. A. |
| Lasiocarpin | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Lasiocarpin-N-oxid | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Lycopsamin | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Lycopsamin-N-oxid | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Monocrotalin | 0.5 | 0.5 | 0.5 | Phytolab |
| Monocrotalin-N-oxid | 0.5 | 1 | 0.5 | Phytolab |
| Retrorsin | 0.5 | 0.5 | 1 | Phytolab |
| Retrorsin-N-oxid | 0.5 | 0.5 | 1 | Phytolab |
| Senecionin | 0.5 | 0.5 | 0.5 | Phytolab |
| Senecionin-N-oxid | 0.5 | 0.5 | 0.5 | Phytolab |
| Seneciphyllin | 0.5 | 0.5 | 0.5 | Phytolab |
| Seneciphyllin-N-oxid | 0.5 | 0.5 | 1 | Phytolab |
| Senecivernin | 0.5 | 0.25 | 0.5 | ROTICHROM® HPLC Roth |
| Senecivernin-N-oxid | 0.5 | 0.25 | 0.5 | ROTICHROM® HPLC Roth |
| Senkirkin | 0.25 | 0.25 | 0.5 | Phytolab |
| Trichodesmin | 0.5 | 0.25 | 0.5 | Latoxan ³ |

Hersteller: ¹ = Phytolab, Vestenbergsgreuth; ² = Carl Roth, Karlsruhe; ³ = Latoxan, Portes lès Valence; für Jacolin/Jaconin konnte Intertek Bremen keine Hersteller nennen

k. A. = keine Angaben

möglichen Veränderungen des Lebergewebes und der Blutwerte liefern. Als einziger signifikanter Parameter, der einen statistischen Einfluss durch das Weiden auf JKK-Flächen zeigte, sind die makroskopisch verdickten Gallengänge im Leberanschnitt zu nennen ($p = 0,002^*$). Der Nachweis von Parasiten bzw. deren Stadien im Kot war bei den JKK-Tieren statistisch nicht häufiger als in der Kontrollgruppe. Im Fall der Magen-Darm-Strongyliden waren die Kontrolltiere sogar signifikant stärker befallen. Dennoch bleibt die wahrscheinlichste Ursache für die vorgefundenen Veränderungen der Lebern eine durchgemachte Infektion mit dem Großen Leberegel. Dass diese auch bei ausbleibendem koproskopischen Nachweis in Betracht gezogen werden muss, liegt am Lebenszyklus dieses Parasiten. Die lange Präpatenz in Verbindung mit der geringen Sensitivität des Sedimentationsverfahrens bei einmaliger Einzel-tieruntersuchung (Rind 55–80 %) kann durchaus dazu beitragen, dass ein Einzeltier in der koproskopischen Untersuchung unauffällig ist (Deplazes et al. 2020). Die geschädigten großen Gallengänge und das Lebergewebe können im Verlauf von bis zu eineinhalb Jahren regenerieren, allerdings sind auch bakterielle Sekundärinfektionen möglich, welche den Schaden erheblich verstärken können und auch nach der Eliminierung der Parasiten aus dem Körper noch bestehen bleiben können. Selbst unter natürlichen Bedingungen und in Gebieten mit endemischem Leberegel-Vorkommen ist die natürliche Immunität gegenüber einer Fasciolose darüber hinaus eher gering ausgeprägt. Bei entsprechendem Parasitendruck kann es daher leicht zu immer wiederkehrenden Reinfektionen kommen (Deplazes et al. 2020). Die Ergebnisse der erhobenen Parameter deuten auf keine zusätzliche gesundheitliche Belastung von mehrjährig auf Flächen mit JKK-Bewuchs weidenden Tieren hin im Vergleich zu Tieren, die nie auf Weiden mit nachweislichem JKK-Bewuchs standen. Die genaue Bewertung einiger histopathologischer Befunde (eosinophile/lymphozytäre Hepatitis) muss im Hinblick auf Parasitendruck und die damit einhergehenden akuten und chronischen Veränderungen der Leber betrachtet werden. Bei den bei zwei Kontrolltieren vorgefundenen histopathologischen Inselbefunden ließ sich ein PA-Einfluss dadurch ausschließen, dass diese Tiere nachweislich nicht auf JKK-reichen Weiden gestanden hatten. In beiden Fällen zeigte sich keine generelle Beeinflussung des übrigen Lebergewebes. Die zu dem histopathologisch zu erwartenden Bild nach einer Pyrrolizidinintoxikation gehörenden Nekrosen (Preliasco et al. 2017) wurden ausnahmslos bei diesen Kontrolltieren festgestellt. Ihre Genese bleibt unklar. In der Fleischschau fehlten ebenso konkrete Anzeichen einer PA-Intoxikation wie eine gestaute Gallenblase oder fibrotische Verhärtung und Schrumpfung des Lebergewebes. Auch die Gesamtbilirubinwerte waren im Normbereich, was darauf hindeutet, dass die gefundenen Gallengangsstauungen eher isolierte, parasitär-bedingte Geschehen waren (Panter et al. 2014). Die ermittelten Schlachtgewichte (Kontrolltiere = Ø 246 kg; JKK-reich = Ø 274 kg) weisen auf einen allgemein guten Gesundheitszustand der Tiere. Die JKK-Tiere dieser Studie haben über einen Zeitraum von vier Jahren auf den JKK-Flächen gestanden und es kann nicht ausgeschlossen werden, dass einzelne Tiere JKK gefressen haben. Die im JKK enthaltenen Bitterstoffe führen aber in der Regel zu

einem Lernverhalten und anschließendem Meiden der Pflanze als Futterpflanze (Cortinovis und Caloni 2015). In einer niederländischen Fütterungsstudie von Vos (Vos et al. 2002) kam es über einen Zeitraum von anderthalb Jahren bereits zu Vergiftungserscheinungen. Alle Tiere zeigten dabei massive Veränderungen in Form von Zirrhose/Fibrose mit teils klinischen Symptomen. Diese Tiere wurden im Unterschied zu den hier untersuchten Tieren direkt mit JKK-kontaminierter Grassilage gefüttert, sodass die Tiere keine Möglichkeit hatten, die PA-haltige Pflanze zu meiden. Auf Einzeltierebene wurden bei den Blutwerten vereinzelt unerhebliche Erhöhungen der Leberenzyme (z. B. Glutamatdehydrogenase) und Elektrolyte (Kalium) nachgewiesen. Für Galloway-Rinder sind Vergleichswerte nicht vorhanden, da dies ein regelmäßiges Beprobieren der eher scheuen Tiere voraussetzen würde. Wahrscheinlich ist jedoch, dass derartige Schwankungen Ausdruck sind einer natürlichen Auseinandersetzung mit dem wechselnden Nahrungsangebot, Hormonstatus und umweltbedingten Noxen (Wetter, Parasiten). Schließlich zeigten auch die massenspektrometrischen Untersuchungen keinen Hinweis auf eine mögliche PA-Belastung der essbaren Gewebe nach Beweidung von JKK-Flächen. Sämtliche Studien, in denen von einer Intoxikation bzw. einem Übertritt in essbare Gewebe/Milch und damit auch von einer potenziellen Verbrauchergefährdung ausgegangen werden kann, beruhen auf Fütterungsversuchen, in denen den Tieren JKK-haltiges Futter „aufgezwungen“ wurde (Pansenfistel: Craig et al. 1991, de Nijs et al. 2017; getrocknetes Futter: Dickinson et al. 1976, Hoogenboom et al. 2011).

Schlussfolgerung

Laut dem BfR ist eine PA-Belastung in Lebens- und Futtermitteln generell unerwünscht und sollte seitens des Lebensmittelunternehmers vermieden werden (BfR 2016), sodass im Fall von ökologischer Rinderhaltung die Frage aufkommt, ob Landwirte und Tierhalter zum Wohle der Tiergesundheit und des Verbraucherschutzes den immensen Aufwand auf sich nehmen sollten, das Jakobskreuzkraut auf ihren Flächen zu bekämpfen. Auch wenn das Fressverhalten der Tiere in der vorliegenden Studie nicht untersucht wurde, lassen die Ergebnisse rückschließen, dass die Tiere trotz teilweise erheblichem Angebot von JKK kurz- und langfristig keine gesundheitsschädlichen Mengen gefressen haben. Es bleibt jedoch offen, über welchen Lernmechanismus sie ggf. in der Lage sind, die Pflanze dauerhaft zu meiden (Herdenstruktur, Geschmack, Geruch o. Ä.). Charakteristische Hinweise auf die Folgen einer PA-Intoxikation konnten bei keinem der JKK-Tiere nachgewiesen werden und auch die Schlachtgewichte deuten auf eine gute Allgemeingesundheit. In allen untersuchten Gewebeprobe lagen die PA-Gehalte unter der Nachweisgrenze, sodass auch hier von keiner Belastung beim Verzehr des Fleisches auszugehen ist. Mit dem aufkommenden Interesse des Verbrauchers an regionalem Fleisch von Tieren aus ökologischer Haltung wird die ganzjährige Weidehaltung von Robustrindern wie sie in dieser Studie untersucht wurde, eine immer wichtigere Rolle spielen. Umso wichtiger ist daher die Feststellung, dass in dieser Form der Tierhaltung keine gesundheitliche

Gefährdung durch JKK für Mensch und Tier zu befürchten ist. Vielmehr sollten die realen Gefahren des JKK in der Nutztierhaltung erkannt und gemieden werden: Da die PAs zumindest beim Trockenprozess von Mahdgut erhalten bleiben (Berendonk et al. 2010, Vandenbroucke et al. 2010, Berendonk und Hünting 2011), den Tieren die Selektion in konserviertem Futter aber weniger gut gelingt als auf der Weide, sollten Landwirte daher stets kontrollieren, von welchen Quellen bzw. Wiesen ihr Heu stammt. In dieser Studie wuchsen die Tiere in einer intakten Herdenstruktur auf, in der sie wahrscheinlich von Geburt an die Möglichkeit hatten, sich dem Fressverhalten der Gruppe anzupassen. Es ist davon auszugehen, dass Robustrinderrassen wie Galloways besser mit dem Vorkommen von giftigen Pflanzen auf der Weide zurechtkommen. Die Ergebnisse sind daher nicht auf unerfahrene Weidetiere und auf andere Rinderrassen übertragbar.

Conflict of interest

Die Autoren versichern, dass keine geschützten, beruflichen oder anderweitigen persönlichen Interessen an einem Produkt oder einer Firma bestehen, welche die in dieser Veröffentlichung genannten Inhalte oder Meinungen beeinflussen könnten.

Ethische Anerkennung

Die Autoren versichern, während des Entstehens der vorliegenden Arbeit die allgemeingültigen Regeln guter wissenschaftlicher Praxis befolgt zu haben. Alle maßgeblichen internationalen, nationalen und/oder institutionellen ethischen Richtlinien für den Umgang mit in der Studie verwendeten Tieren wurden beachtet.

Finanzierung

Die Arbeit wurde durch die Stiftung Naturschutz Schleswig-Holstein, Molfsee unterstützt und vom Ministerium für Energiewende, Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume Schleswig-Holstein gefördert. Hierfür möchten wir uns herzlich bedanken. Die Autoren versichern, dass sie Daten hierzu auf begründete Nachfrage hin bereitstellen.“

Autorenbeitrag

AF, AH, MHo und SW konzipierten die Studie. AF, AH und SW waren bei den Schlachtungen vor Ort, entnahmen die Proben und bereiteten diese für die spätere Analyse auf. AF führte die makros- und mikroskopischen Untersuchungen des Lebergewebes am Schlachtbetrieb und im Labor der Pathologie der TiHo Hannover durch. Die Blutparameter wurden im Labor der TiHo Hannover untersucht und von MHo interpretiert. Die Datenanalyse aller Parameter in R übernahm MHa. Die Ergebnisse wurden von den Autorinnen und dem Autor gemeinsam interpretiert und diskutiert. AF erstellte eine erste Version des Manuskripts und die Autorinnen und die Autoren ergänzten und korrigierten den Entwurf.

Literatur

- Allgaier C, Franz S (2015):** Risk assessment on the use of herbal medicinal products containing pyrrolizidine alkaloids. *Regul Toxicol Pharmacol* 73(2): 494–500.
- Anastasiades M, Lehotay S, Štajnbaher D (2003):** Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) approach for the determination of pesticide residues. WTQA – 18th Annual Waste Testing & Quality Assurance Symposium, Arlington, USA, August 10–15, 2003.
- Avula B, Sagi S, Wang Y-H, Zweigenbaum J, Wang M, Khan I (2015):** Characterization and screening of pyrrolizidine alkaloids and N-oxides from botanicals and dietary supplements using UHPLC-high resolution mass spectrometry. *Food Chem* 178: 136–48.
- Berendonk C, Hünting K (2011):** Einfluss der Silierung auf den Gehalt an Pyrrolizidin-alkaloiden von *Senecio jacobaea* in Abhängigkeit vom *Senecio*-Gehalt im Siliergut. *Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft Grünland und Futterbau* 12: 159–162.
- Berendonk C, Cerff D, Hünting K, Wiedenfeld H, Becerra J, Kuschalk M (2010):** Pyrrolizidine alkaloid level in *Senecio jacobaea* and *Senecio erraticus* – the effect of plant organ and forage conservation. *Proceedings of the 23rd General Meeting of the Europ. Grassl. Fed. "Grassland in a Changing World"*, Kiel, Germany, 669–671.
- BfR (2016):** Aktualisierte FAQ des BfR vom 28. September 2016; Stand September 2017. http://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zu_pyrrolizidinalkaloiden_in_lebensmitteln-187302.html (Zugriff 11.11.2020).
- Bode AM, Dong Z (2015):** Toxic Phytochemicals and their potential risks for Human Cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 8(1): 1–8.
- Carvalho S, Maciel M (2014):** Phytochemistry Chemical variation in *Jacobaea vulgaris* is influenced by the interaction of season and vegetation successional stage. *Phytochemistry* 99: 86–94.
- Cheeke PR, Pierson-Goeger MI (1983):** Toxicity of *Senecio jacobaea* and Pyrrolizidine Alkaloids in various laboratory animals and avian species. *Toxicol Lett* 18: 343–349.
- Cochran WG (1957):** Analysis of Covariance – Its nature and uses. *Biometrics* 13(3): 261–281.
- Cortinovis C, Calloni F (2015):** Alkaloid-Containing Plants Poisonous to Cattle and Horses in Europe. *Toxins (Basel)* 7(12): 5301–5307.
- Craig AM, Pearson EG, Meyer C, Schmitz JA (1991):** Serum liver enzyme and histopathologic changes in calves with chronic and chronic-delayed *Senecio jacobaea* toxicosis. *Am J Vet Res* 52(12): 1969–1978.
- Crews C, Driffield M (2009):** Loss of pyrrolizidine alkaloids on decomposition of ragwort (*Senecio jacobaea*) as measured by LC-TOF-MS. *J Agric Food Chem* 57(9): 3669–3673.
- De Nijs M, Mulder PPJ, Klijnstra M, Driehuis F, Hoogenboom R (2017):** Fate of pyrrolizidine alkaloids during processing of milk of cows treated with ragwort. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 34(12): 2212–2219.
- Deplazes P, Eckert J, Zahner H (2012):** Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. 3. Aufl. Enke, Stuttgart.
- Deplazes P, Joachim A, Mathis A, Strube C, Taubert A, von Samson-Himmelstjerna G, Zahner H (2020):** Parasitologie für die Tiermedizin. 4. Aufl. Thieme, Stuttgart.

- Dickinson JO, Cooke MP, King R, Mohamed PA (1976):** Milk transfer of pyrrolizidine alkaloids in cattle. *J Am Vet Med Assoc* 169(11): 1192–1196.
- Fisher RA (1935):** The logic of inductive inference. *J R Stat Soc Series A* 98: 39–54.
- Hoogenboom LA, Mulder PP, Zeilmaier MJ, van den Top H, Rummelink G, Brandon EFA, Klijstra M, Meijer G, Schothorst R, Egmont HP (2011):** Carry-over of pyrrolizidine alkaloids from feed to milk in dairy cows. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 28(3): 359–372.
- Huckauf A, Rabe I, Aboling S, Böbling B, Böttner B, Ehlers B, Kassebeer C, Lütt S, Neumann H, Pechan B, Pfeil W, Ramert D, Trede J, Vervuert I, Walter A, Werner M (2017):** Umgang mit dem Jakobs-Kreuzkraut. Meiden – Dulden – Bekämpfen. Schriftenreihe LLUR SH – Natur 25.
- Johnson AE (1978):** Tolerance of cattle to tansy ragwort (*Senecio jacobaea*). *Am J Vet Res* 39(9): 1542–1544.
- Laird NM, Ware JH (1982):** Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics* 38(4): 963–974.
- MLR Baden-Württemberg (2009):** Das Jakobskreuzkraut ist auf dem Vormarsch, 07.08.2009. <https://mlr.baden-wuerttemberg.de/de/unser-service/presse-und-oeffentlichkeitsarbeit/pressemitteilungen/pressemitteilung/pid/das-jakobskreuzkraut-ist-auf-dem-vormarsch-1/> (Stand September 2017) (Zugriff 01.09.2022).
- Mulder PPJ, López Sánchez P, These A, Preiss-Weigert A, Castellari M (2015):** Occurrence of Pyrrolizidine Alkaloids in food. *EFSA Supp Public* 12(8): 859E.
- Mulisch M, Welsch U (2015):** Romeis Mikroskopische Technik. 19. Aufl. Springer, Heidelberg.
- Panther K, Welch K, Gardner D (2014):** Chapter 33 – Poisonous plants: biomarkers for diagnosis. In: Gupta R (ed.), *Biomarkers in Toxicology*. Elsevier, San Diego, USA, 563–589.
- Pearson K (1900):** On the criterion that a given system of derivations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *Lond Edinb Dubl Phil Mag* 50(5): 157–175.
- Preliasco M, Gardner D, Moraes J, Gonzales AC, Uriarte G, Rivero R (2017):** *Senecio grisebachii* Baker: Pyrrolizidine alkaloids and experimental poisoning in calves. *Toxikon* 133: 68–73.
- Schoental R (1968):** Toxicology and Carcinogenic Action of Pyrrolizidine Alkaloids. *Cancer Res* 28(11): 2237–2246.
- Shull LR, Buckmaster GW, Cheeke PR (1976):** Factors influencing pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloid metabolism: species, liver sulphydryls and rumen fermentation. *J Anim Sci* 43: 1247.
- Stegelmeier B, Edgar J, Coulombe RA, Molyneux RJ (1999):** Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *J Nat Toxins* 8(1): 95–116.
- Student (1908):** The probable error of a mean. *Biometrika* 6: 1–25.
- Thienpont D, Rochette F, Vanparijs O (1990):** Diagnose von Helminthosen durch koproscopische Untersuchung. 2. Aufl. Beersse Verlag, Belgien.
- Vandenbroucke V, Van Pelt H, De Backer P, Croubels S (2010):** Animal poisonings in Belgium: A review of the past decade. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschr* 79: 259–268.
- Verbeke G, Molenberghs G (2000):** Linear mixed models for Longitudinal data. Springer Series in Statistics, New York.
- Vos JH, Geerts AAJ, Borgers J, Mars MH, Muskens J, van Wuijkhuise-Sjouke L (2002):** *Senecio jacobaea*: deceiving beauty. *Senecio jacobaea* poisoning. *Tijdschr Diergeneeskd* 127(24): 753–756.
- Welch BL (1938):** The significance of the difference between two means when the population variances are unequal. *Biometrika* 29(3-4): 350–362.

Korrespondenzadresse:

Steffi Wiedemann
Hochschule Rhein-Waal, Dezernat Ressourcen,
Abt. Finanzmanagement
Marie-Curie-Str. 1
47533 Kleve
steffi.wiedemann@hochschule-rhein-waal.de