

Quantitativer Nachweis und genetische Marker für Fischgeruch im Hühnerei

Dr. Kristina Reese, Dr. Steffen Weigend (Mariensee), Dr. Matthias Schmutz und Prof. Rudolf Preisinger (Cuxhaven)

Einleitung

Geruch und Geschmack sind die beiden Hauptkomponenten, die die sensorischen Eigenschaften des Hühneries beeinflussen. Bei braunschaligen Eiern kann vereinzelt Trimethylamin (TMA) im Eidotter gefunden werden. Typisch für TMA ist der Geruch nach verdorbenem Fisch, der von den Verbrauchern als unangenehm und unakzeptabel bewertet wird (HUMBERT et al., 1970; HOBSON FROHOCK et al., 1973).

TMA gelangt über den eigenen Stoffwechsel, der TMA produzieren kann, oder über Vorläufer-Moleküle (TMA-Oxid, Cholin), die teilweise als essenzieller Bestandteil im Legehennen-Futter enthalten sein können, in den Körper der Hennen. Enterobakterien, die insbesondere im Blindarm lokalisiert sind, bauen diese Vorläufer-Moleküle zu TMA ab. TMA wird resorbiert und über die Blutbahn zur Leber transportiert. In der Leber ist ein Enzym lokalisiert, das für die Oxidation von TMA zuständig ist. Nachdem TMA zu dem geruchlosen TMA-Oxid oxidiert wurde, verlässt es den Körper über die Exkrete.

Ist die Aktivität des Enzyms durch umweltbedingte oder genetische Einflüsse eingeschränkt, wird TMA nicht vollständig oxidiert, so dass ein Teil des TMA in den Eidotter gelangt und dort einen fischigen Geruch im Eidotter verursachen kann.

In der Humanmedizin ist eine genetisch bedingte Stoffwechselkrankheit bekannt („Trimethylaminuria“), bei der die betroffenen Personen einen typischen Körpergeruch (Schweiß, Atem und Urin) nach verdorbenem Fisch aufweisen. Ursachen für diese Krankheit sind Mutationen des für die TMA-Oxidation verantwortlichen Enzyms. Es ist bekannt, dass es sich bei dem Enzym um eine Flavin enthaltende Monooxygenase III (FMO3) handelt, die einer großen Familie von Flavin enthaltenden Monooxygenasen angehört. Bestimmte Mutationen des FMO3-Gens führen zu einer reduzierten Enzymaktivität und somit zu erhöhten TMA-Gehalten im Urin und im Blut der Personen.

Bei Rindern konnte eine Mutation des FMO3-Gens beobachtet werden, die auch zu einer reduzierten Enzymaktivität und dadurch zu einem fischigen Geruch in der Milch führt (LUNDEN et al., 2002).

Ein Defekt der FMO3, wie oben beschrieben, ist bisher beim Geflügel noch nicht nachgewiesen worden, obwohl sich zahlreiche Studien mit der Fischei-Problematis beschäftigt haben (LÜBBE et al., 1981; BUTLER und FENWICK, 1984; HORIGUCHI et al., 1998; ZENTEK und KAMPHUES, 2000, 2002; ZENTEK, 2003). In diesen Untersuchungen wurde unter anderem gezeigt, dass nicht jede Rasse von einem fischigen Geruch im Eidotter betroffen ist. Rhodeländer, Light Sussex und Braune Leghorn können Merkmalsträger sein, während bei Weißen Leghorn und New Hampshire bisher keine Auffälligkeiten beobachtet wurden (BUTLER und FENWICK, 1984; HORIGUCHI et al., 1998). Obwohl es Vermutungen gab, dass das Auftreten eines fischigen Geruchs im Eidotter mit der Schalenfarbe im Zusammenhang steht, konnte dies nicht bestätigt werden (BUTLER et al., 1983).

Durch Substanzen im Futter kann die FMO3-Aktivität gehemmt sein (PEARSON et al., 1981; CASHMAN et al., 1999). Dies sind unter anderem Glucosinolate, die in Kreuzblütlern (z. B. Raps, Brokkoli oder Rüben) nachzuweisen sind. Eine andere Stoffgruppe stellen die Tannine dar, die auch im Raps enthalten sind und durch ihre hemmenden Eigenschaften die Aktivität des Enzyms einschränken können.

Um Merkmalsträger in der Zuchtstufe zu identifizieren, wurden bisher hauptsächlich organoleptische Prüfungen durchgeführt (ZENTEK und KAMPHUES, 2000, 2002; Zentek, 2003). Eine quantitative Bestimmung des TMA-Gehaltes im Eidotter wurde von LÜBBE und Mitarbeitern (1981), HORIGUCHI und Mitarbeitern (1998) und JEROCH und Mitarbeitern (1999) durchgeführt, allerdings wurden keine genaueren Analyseverfahren angegeben.

Da zum einen die Fischindustrie den TMA-Gehalt im Fischmuskel nutzt, um eine Aussage über den Frischegrad des Fisches machen zu können, und zum anderen beim Menschen eine genetisch bedingte Stoffwechselkrankheit Ursache für den fischigen Geruch der Individuen ist, sind zahlreiche Analysemethoden, die den TMA-Gehalt im Fischmuskel bzw. im Urin oder im Blut bestimmen, publiziert (DYER, 1945; HOOGLAND, 1958; MURRAY und GIBSON, 1972 a und b; MAYATEPEK und KOHLMÜLLER, 1998; CASHMAN et al., 1999).

Ziel der vorliegenden Studie war es, eine Analysemethode zu etablieren, mit der der Trimethylamingehalt im Eidotter zuverlässig quantitativ bestimmt werden kann, um darauf aufbauend einen genetischen Marker für diesen Defekt identifizieren zu können.

Versuchstiere

Die für die Untersuchungen herangezogenen Tiere bestanden aus F₂-Kreuzungstieren, die aus einer Verpaarung von 21 Rhodeländer Hennen mit 4 Weißen Leghorn Hähnen hervorgingen. Neun männliche und 45 weibliche Tiere bildeten die F₁-Generation, in der jeder Hahn an 5 Hennen angepaart wurde. Die F₂-Generation bestand aus 457 Hennen, die durch mehrmalige organoleptische Prüfung als Merkmalsträger (Hennen mit einem fischigen Geruch im Eidotter) bzw. als Hennen ohne Abweichung eingestuft wurden. Bei 85 Hennen wurde ein fischiger Geruch im Eidotter festgestellt (Tainter). Zum Vergleich wurden 85 Non-Tainter bestimmt, so dass insgesamt 170 Tiere für den quantitativen TMA-Nachweis im Eidotter und für die Genotypisierung herangezogen wurden.

Fütterung

Der fischige Geruch bzw. ein erhöhter TMA-Gehalt im Eidotter wurden durch Cholin (6000 mg/kg Futter), ein Vorläufermolekül von Trimethylamin, und Rapsfütterung (5 %) provoziert. Dabei wurde die Untersuchung in drei Fütterungsperioden eingeteilt. In der ersten und dritten Fütterungsperiode wurde das Cholin-belastete Futter verabreicht. In der zweiten Fütterungsperiode wurde auf die Cholin-Belastung im Futter verzichtet.

Quantitativer TMA-Test

Chemische Analyse

Da sich 95 % des Trimethylamins im Eidotter befinden (HOBSON-FROHOCK et al., 1973), wurde für den quantitativen Nachweis das Eiklar vom Eidotter getrennt, so dass nur der Eidotter für die Analyse verwendet wurde. Die chemische Analyse basierte auf der von MURRAY und GIBSON (1972 a) veröffentlichten Methode.

Für die Extraktion des Trimethylamins wurden 15 g Eidotter mit einer 10 %igen Trichloressigsäure (TCE) -Lösung auf ein Gesamtvolumen von 30 ml aufgefüllt. Anschließend wurde die Probe bis zum Entstehen einer homogenen Substanz geschüttelt und 10 Stunden bei Raumtemperatur ruhig stehen gelassen. Danach erfolgte die Filtration. In dem Filtrat lag TMA als Salz gebunden an TCE vor.

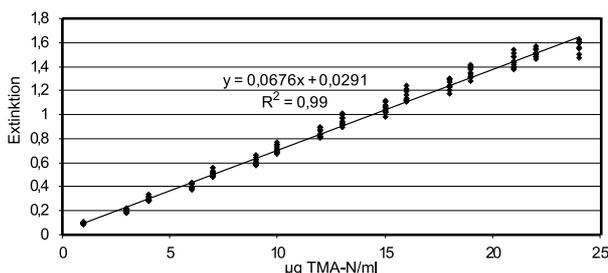
Für die weitere Analyse wurden das Filtrat mit Kaliumhydroxid (KOH), Formaldehyd und Toluol versetzt. Damit wurde das Reaktionsgemisch durch die KOH-Lösung in den basischen Bereich überführt, so dass sich TMA von TCE löst und wieder frei vorliegt (MURRAY und GIBSON, 1972 a und b). Durch die Lösungsmittleigenschaften des Toluols ging TMA in die Toluolphase über.

Anschließend wurden 2,5 ml des Toluolüberstandes abgenommen und mit 2,5 ml des vorher zubereiteten Pikrinsäurereagens versetzt, so dass sich ein gelblicher TMA-N-Pikrat-Komplex bildete, dessen Intensität mit dem Photometer bei 410 nm gemessen werden konnte.

Da bei der Bildung des TMA-N-Pikrat-Komplexes ausschließlich der Stickstoff (N) des TMA reagiert (23,7 % des TMA ist Stickstoff), sind die nachfolgenden Ergebnisse als TMA-N dargestellt.

Um den gemessenen Extinktionswerten absolute TMA-Gehalte zuzuordnen, wurde eine Kalibrierung in wässriger Lösung durchgeführt. Dafür wurden 16 Verdünnungen einer Stammlösung mit 24 µg TMA-N/ml angesetzt und gemessen (n = 10). Die Untersuchungen der Eichlösung haben ergeben, dass die Kurve im Bereich zwischen 1 µg TMA-N/ml und 24 µg TMA-N/ml annähernd linear zu den gemessenen Extinktionswerten verläuft (Abb. 1). Die methodisch bedingte Variation der Methode wurde durch die wiederholte (n = 30) Messung von drei Verdünnungen (6, 12 und 18 µg TMA-N/ml) der Stammlösung bestimmt und ergab einen Variationskoeffizienten von 4 %.

Abbildung 1: Kalibrierungskurve von 16 Verdünnungen einer wässrigen Stammlösung mit 24 µg TMA/ml



Markertypisierung

Das menschliche FMO3-Gen ist auf Chromosom 1q23-25 kartiert. Ein Vergleich zwischen Genorten (BURT et al., 1999) sowie ein in Finnland mit Mikrosatelliten durchgeführter Genom-Scan an den Linien des Zuchtprogramms für Lohmann Brown (VILLKI, persönliche Mitteilung) zeigte eine vielversprechende Region auf Chromosom 8 des Hühnergenoms. Die Tiere der F₀-Generation wurden mit vier Mikrosatelliten auf Chromosom 8 typisiert (MCW0275, MCW0305, LEI0179 und ADL0322).

Ergebnisse

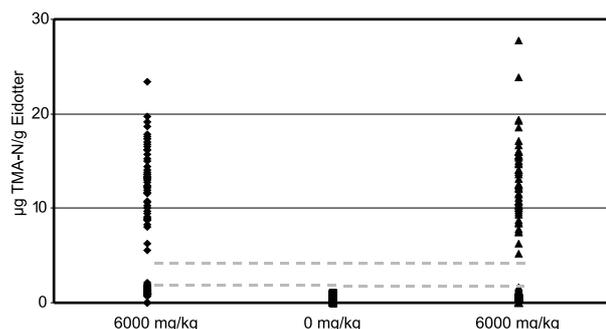
TMA-N-Gehalt im Eidotter

Es zeigte sich, dass die organoleptische Einteilung der Tiere in Tainter und Non-Tainter nicht in allen Fällen mit der chemischen Analyse übereinstimmte. Es wurden Tiere gefunden, die organoleptisch als Tainter klassifiziert worden sind, in der chemischen Analyse jedoch niedrige TMA-N-Gehalte zeigten. Umgekehrt sind Non-Tainter identifiziert worden, die wiederum erhöhte Gehalte im Eidotter aufwiesen. Aufgrund der Nicht-Übereinstimmungen zwischen organoleptischer Prüfung und chemischer Analyse wurden die Hennen, basierend auf gemessenen TMA-N-Gehalten, neu zugeordnet.

In der ersten Fütterungsperiode wurden drei Eier je Henne auf ihren TMA-N-Gehalt untersucht. Für die drei Messungen wurde eine hohe Wiederholbarkeit sowohl für Tiere mit einem hohen (r = 0,92) als auch für Tiere mit einem niedrigen TMA-N-Gehalt im Eidotter (r = 0,80) berechnet. Aufgrund der hohen Wiederholbarkeiten sind die einzelnen Beobachtungen je Henne durch Mittelwertsbildung zu einem Merkmal zusammengefasst worden.

Da ein Bereich beobachtet werden konnte, in dem keine Messwerte aufgetreten sind (2,1 bis 5,6 µg TMA-N/g Eidotter; Abb. 2), wurden die Tiere oberhalb von 5,6 µg TMA-N/g Eidotter als Tiere mit einem hohen TMA-N-Gehalt (H-Gruppe) und Tiere unterhalb von 2,1 als Tiere mit einem niedrigen TMA-N-Gehalt (L-Gruppe) im Eidotter eingestuft. Insgesamt wurden 54 Tiere der H-Gruppe (Mittelwert: 13,2 ± 3,6 µg TMA-N/g Eidotter) und 114 Tiere der L-Gruppe (Mittelwert: 1,2 ± 0,3 µg TMA-N/g Eidotter) zugeordnet.

Abbildung 2: Verteilung der TMA-N-Gehalte im Eidotter in der F₂-Generation in Fütterungsperiode I (6000 mg Cholin/kg), II (0 mg Cholin/kg) und III (6000 mg Cholin/kg)



In der zweiten Fütterungsperiode, in der auf eine Cholinbelastung im Futter verzichtet wurde, konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen H- und L-Gruppe berechnet werden. Der mittlere TMA-N-Gehalt betrug $0,9 \mu\text{g} \pm 0,2 \mu\text{TMA-N/g}$ Eidotter.

In der dritten Fütterungsperiode wurde das Cholin-belastete Futter erneut verfüttert und dieselben Hennen, die in der ersten Fütterungsperiode hohe TMA-N-Gehalte aufwiesen, zeigten erneut hohe Werte. Die Tiere, die schon in der ersten Fütterungsperiode niedrige Gehalte hatten, zeigten auch in der dritten Fütterungsperiode keine Auffälligkeiten. Für die H-Gruppe wurde ein Mittelwert von $13,0 \pm 4,4 \mu\text{TMA-N/g}$ Eidotter und für die L-Gruppe ein Mittelwert von $0,8 \pm 0,2 \mu\text{TMA-N/g}$ Eidotter berechnet. Innerhalb der Tiere der H-Gruppe wurde eine Korrelation von 0,6 berechnet.

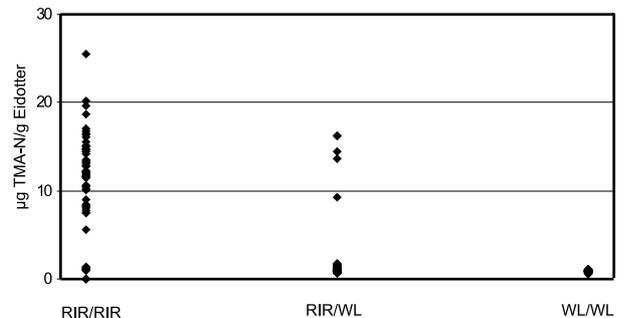
Markertypisierung

Der Mikrosatellit ADL0322 war informativ zwischen Rhodeländer-Hennen und Weißen Leghorn-Hähnen, da keine gemeinsamen Allele in beiden Linien beobachtet wurden (Abb. 3). Für die Rhodeländer-Hennen waren die Allele 148 und 136 charakteristisch, während die Weißen Leghorn-Hähne homozygot für das Allel 140 waren.

Nach der Typisierung der F₂-Generation wurden die 170 Tiere anhand des Genotyps in drei Gruppen eingeteilt (Abb. 4). In der ersten Gruppe (n = 56) waren die Tiere, die ausschließlich Allele von den Rhodeländer Hennen geerbt hatten. In der zweiten Gruppe waren die Tiere (n = 78), die ein Allel von den Rhodeländer Hennen und ein Allel von den Weißen Leghorn Hähnen trugen. Tiere, für die ausschließlich das Allel von den Weißen Leghorn-Hähnen charakteristisch war (n = 35), wurden der dritten Gruppe zugeteilt.

Um eine Assoziation zwischen Genotyp und TMA-N-Gehalt im Eidotter herzustellen, wurden die TMA-N-Gehalte der ersten und dritten Fütterungsperiode durch Mittelwertbildung zu einem Merkmal zusammengefasst. So gehörten die meisten Hennen, die homozygot für die Rhodeländer-Allele waren, zu den Tieren der H-Gruppe und

Abbildung 4: Verteilung der TMA-N-Gehalte im Eidotter von F₂-Hennen, typisiert mit dem Mikrosatelliten ADL0322. Die Gruppe RIR/RIR steht für Hennen, die ausschließlich Rhodeländer-Allele geerbt haben, die Gruppe RIR/WL stellt heterozygote Individuen dar, während die Gruppe WL/WL-Hennen darstellt, die ausschließlich das Weiße Leghorn-Allel aus der F₀-Generation tragen.

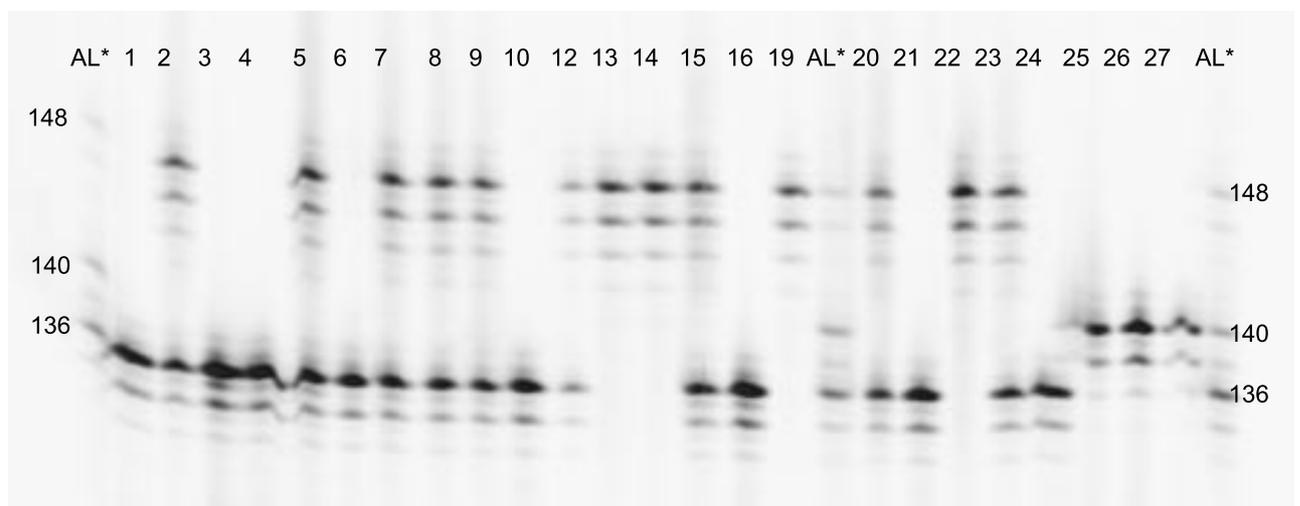


zeigten einen mittleren TMA-N-Gehalt von $11,4 \pm 5,0 \mu\text{TMA-N/g}$ Eidotter. Heterozygote Individuen zeigten niedrige TMA-N-Gehalte ($1,8 \pm 3,9 \mu\text{TMA-N/g}$), allerdings wurden zwei Hennen mit erhöhtem TMA-N-Gehalt im Eidotter beobachtet. Tiere, die das Weiße Leghorn-Allel homozygot zeigten, hatten ausschließlich niedrige TMA-N-Gehalte ($0,9 \pm 0,1 \mu\text{TMA-N/g}$ Eidotter).

Diskussion

Geruchliche Abweichungen im braunschaligen Hühnerei führen bei den Verbrauchern zu Beschwerden (ZENTEK und KAMPHUES, 2000; ZENTEK, 2003) und sollten bei der Produktion von Konsumeiern möglichst vermieden werden. Es ist bekannt, dass erhöhte Trimethylamin-Konzentrationen im Eidotter für einen fischigen Geruch des Eies verantwortlich sind. In der vorliegenden Untersuchung wurde zunächst eine quantitative TMA-Nachweismethode etabliert, da anschließend untersucht werden sollte,

Abbildung 3: Gelbild der Tiere 1 bis 27 für den Mikrosatelliten ADL0322 in der F₀-Generation. Die Nummern 1 bis 24 stellen die Hennen der Rhodeländer-Linie dar, während die Nummern 25 bis 27 die Hähne der Weißen Leghorn-Linie darstellen.



inwieweit genetische Ursachen, die zu erhöhten TMA-Konzentrationen führen, existieren.

Für diesen Zweck wurde mit einer Analysenmethode gearbeitet, die bei der TMA-Bestimmung im Fischmuskel Anwendung findet (MURRAY und GIBSON, 1972 a und b). Die chemische Analyse basierte auf einer photometrischen Messung des TMA-N-Gehaltes im Eidotter, da ausschließlich der Stickstoff des Trimethylamins bei der photometrischen Messung reagiert und gemessen wird. Da ungefähr 23 % des Molekulargewichtes des TMA Stickstoff ist, können die TMA-N-Gehalte leicht in totale TMA-Gehalte umgerechnet werden.

Die Berechnung eines Variationskoeffizienten von 4 % nach wiederholter Messung (60x) von drei Standard-Verdünnungen unterschiedlicher Konzentration zeigte, dass die photometrische Analyse, wie in der Literatur beschrieben (MURRAY und GIBSON, 1972 a und b), als zuverlässig und gut wiederholbar einzustufen ist.

Mit der chemischen Analyse wurde der TMA-N-Gehalt im Eidotter bei 170 vorselektierten Hennen aus der F₂-Generation quantitativ bestimmt. Für diese Untersuchung wurden die Hennen mit einem Cholin (Vorläufermolekül von TMA) -belasteten Futter gefüttert, um so die Hennen zu identifizieren, die von einer reduzierten Oxigenase-Aktivität betroffen sind.

Nachdem das Cholin-belastete Futter in der ersten Fütterungsperiode gefüttert wurde, konnten zwei Gruppen identifiziert werden, die sich im TMA-N-Gehalt unterscheiden: Eine Gruppe (H-Gruppe) mit einem signifikant höheren TMA-N-Gehalt im Eidotter und eine Gruppe mit niedrigeren TMA-N-Gehalten (L-Gruppe). Nachdem in der zweiten Fütterungsperiode auf das Cholin im Futter verzichtet wurde, konnte zwischen den Gruppen kein Unterschied mehr beobachtet werden. Anschließend wurde erneut das Cholin-belastete Futter verabreicht und die Hennen, die in der ersten Fütterungsperiode als Merkmalsträger identifiziert worden sind, wurden wieder der H-Gruppe zugeordnet. Dies lässt auf eine genetische Komponente, die für eine reduzierte TMA-Oxidation verantwortlich ist, schließen. Unterstützt wird dies durch Beobachtungen, die in anderen Untersuchungen gemacht worden sind. So zeigten PEARSON und Mitarbeiter (1983), dass nur bestimmte Hennen mit erhöhten TMA-Gehalten auf eine mit Fischmehl angereicherte Fütterung reagieren. Andere Hennen, die dasselbe Futter erhalten hatten, zeigten keine Auffälligkeiten.

Innerhalb der H-Gruppe wurde ein Korrelationskoeffizient von 0,6 für Fütterungsperiode I und III je Henne berechnet. Dieser zeigt, dass die Hennen trotz gleicher Cholin-Belastung im Futter unterschiedliche TMA-N-Gehalte im Eidotter aufweisen und dass somit der TMA-N-Gehalt/Henne auch von Umweltfaktoren wie zum Beispiel der Futteraufnahme beeinflusst wird.

Der auffällige Rückgang im TMA-N-Gehalt in der zweiten Fütterungsperiode bestätigt, dass das Cholin in der Fütterung für erhöhte TMA-N-Gehalte verantwortlich ist. Auch PEARSON und Mitarbeiter (1983) beobachteten, dass der TMA-Gehalt sank, nachdem sie in den Untersuchungen auf die Fütterung von Fischmehl, eine andere TMA-Quelle, verzichteten. Interessanterweise sind während der Untersuchungen von PEARSON und Mitarbeitern (1983) Hennen beobachtet worden, die trotz „risikofreier“ Fütterung erhöhte TMA-Gehalte zeigten. In der vorliegenden Studie konnte dies nicht beobachtet werden.

Durch die Bestimmung der TMA-N-Gehalte im Eidotter wurden zwei Gruppen identifiziert, die sich in ihrem Phänotyp voneinander unterscheiden (Abb. 2). Anhand genetischer Marker sollte die Gruppierung nachvollzogen werden, da zahlreiche Hinweise aus der Literatur existieren, dass der fischige Geruch von Individuen bzw. Produkten genetische Ursachen hat (BOLTON et al., 1976; AYESH et al., 1993; DOLPHIN et al., 1997; LUNDEN et al., 2002).

In der F₂-Generation konnte bestätigt werden, dass die Allele 148 und 136 des Mikrosatelliten ADL0322 mit hohen TMA-N-Gehalten im Eidotter assoziiert werden konnten, während heterozygote Individuen, die ein Allel von den Rhodeländer-Hennen und ein Allel von den Weißen Leghorn-Hähnen geerbt haben, ebenso wie die Tiere, die ausschließlich das Weiße Leghorn-Allel trugen, mit niedrigen TMA-N-Gehalten assoziiert wurden. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass der Mikrosatellit ADL0322 als Selektionswerkzeug eingesetzt werden könnte.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung zeigen, dass es sich, wie bei Mensch und Rind berichtet, um ein rezessives Merkmal handelt, da heterozygote Tiere niedrige TMA-N-Gehalte zeigten und kein abweichender Geruch feststellbar war.

Es wurden einige wenige Ausnahmen identifiziert, die deutlich machen, dass sich der Mikrosatellit zwar in der Nähe der FMO3 befindet, aber dennoch keine 100 %ige Kopplung zwischen Marker und Genort vorliegt. Da inzwischen die FMO3-Sequenz des Huhnes in der Datenbank veröffentlicht wurde, sollen weitere Untersuchungen die für hohe TMA-N-Gehalte im Eidotter verantwortliche Mutation identifizieren, so dass die Tiere zu 100 Prozent als Merkmalsträger bzw. Nicht-Merkmalsträger identifiziert werden können.

Ein entsprechender Gentest kann dann als Selektionsgrundlage zur Sanierung der Zuchtlinien herangezogen werden. Über die einzelnen Vermehrungsstufen muss die Sanierung bis zur Endproduktstufe erfolgen. Erst dann ist gewährleistet, dass braunschalige Eier hinsichtlich der Gefahr von Geruchsabweichungen wie weißschalige eingestuft werden können.

Literaturverzeichnis

- AYESH, R., MITCHELL, S. C., ZHANG, A., SMITH, R. L. (1993): The fish odour syndrome: biochemical, familial and clinical aspects. *BMJ (Clinical research ed.)* 307, 655-657
- BOLTON, W., CARTER, T. C., MORLEY JONES, R. (1976): The hen's egg: Genetics of taints in eggs from hens fed on rapeseed meal. *British Poultry Science* 17, 313-320
- BURT, D. W., BRULEY, C., DUNN, I. C., JONES, C. T., RAMAGE, A., LAW, A. S., MORRICE, D. R., PATON, I. R., SMITH, J., WINDSOR, D., SAZANOV, A., FRIES R., WADDINGTON, D. (1999): The dynamics of chromosome evolution in birds and mammals. *Nature* Nov 25; 402 (6760): 411-413
- BUTLER E. J., PEARSON, A. W., GREENWOOD, N. M. (1983): Trimethylamine taint in eggs: the occurrence of the causative metabolic defect in commercial hybrids and pure breeds in relation to shell colour. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 35 (3), 272-278
- BUTLER, E. J., FENWICK, G. R. (1984): Trimethylamine and fishy taint in eggs. *World's Poultry Science Journal* 40, 38-51
- CASHMAN, J. R., XIONG, Y., LIN, J., VERHAGEN, H., VAN POPPEL, G., VAN BLADEREN, P. J., LARSEN-SU, WILLIAMS, D. E. (1999): *In Vitro* and *In Vivo* Inhibition of Human Flavin-Containing Monooxygenase Form 3 (FMO3) in the Presence of Dietary Indoles. *Biochemical Pharmacology* 58, 1047-1055
- DOLPHIN, C. T., RILEY, J. H., SMITH, R. L., SHEPARD, E. A., PHILLIPS, I. R. (1997): Structural organisation of the human flavin-containing monooxygenase 3 gene (FMO3), the favoured candidate for fish-odour syn-

- drome, determined directly from genomic DNA. *Genomics* 46 (2), 260-267
- DYER, W. J. (1945): Colorimetric Determination of Trimethylamine as the picrate salt. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 6, 351-358
- HOBSON-FROHOCK, A., LAND, D. G., GRIFFITH N. M., CURTIS, R. F. (1973): Letter: Egg taints: association with trimethylamine. *Nature* 243 (5405), 304-305
- HOOGLAND, P. L. (1958): Grading fish for Quality 2. Statistical Analysis of the Result of Experiments Regarding Grades and Trimethylamine Values. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 15 (4), 717-728
- HORIGUCHI, K., SHIMIZU, K., TOTSUKA, K., YAMAMOTA, A., ITOH, T., FUJIMURA, S., ISHIBASHI, T. (1998): White Leghorn hens supplied excess choline, rapeseed meal or fish meal produce fishy odor free eggs. *Journal of Animal Science and Technology*. (Jpn.) 69, 22-25
- HUMBERT, J. A., HAMMOND, K. B., HATHAWAY, W. E., MARCOUX, J. G., O'BRIEN, D. (1970): Trimethylaminuria, The fish odor Syndrome. *Lancet* 1970 i, 770-771
- JEROCH, H., DÄNICKE, S., BRETTSCHEIDER, J. G., SCHUMANN, W. (1999): Einsatz von behandelter Rapssaat bei braunen Legehennen. *Austrian Journal of Agricultural Research* 1, 45-54
- LÜBBE, F., KÜTHER, K., FLOCK, D. K. (1981): Einfluss von Rapsschrot und TMA auf den Geruch von braunschaligen Eiern. *Lohmann Information* September/Okttober 1981, 1-4
- LUNDEN, A., MARKLUND, S., GUSTAFSSON, V., ANDERSSON, L. (2002): A nonsense mutation in the FMO3 gene underlies fishy off-flavour in cow's milk. *Genome Research* Dec. 12, 1885-1888
- MAYATEPEK, E., KOHLMÜLLER, D. (1998): Transient trimethylaminuria in childhood. *Acta Paediatr.* 87, 1205-1207
- MURRAY, C. K., GIBSON, D. M. (1972 a): An investigation of the method of determining trimethylamine in fish muscle extracts by the formation of its picrate salt. *Journal of Food Technology* 7, 35-47
- MURRAY, C. K., GIBSON, D. M. (1972 b): An investigation of the method of determining trimethylamine in fish muscle extracts by the formation of its picrate salt. *Journal of Food Technology* 7, 47-51
- PEARSON, A. W., GREENWOOD, N. M., BUTLER, E. J., FENWICK, G. R. (1981): The inhibition of trimethylamine oxidation in the domestic fowl (*Gallus domesticus*) by antithyroid compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology* 69C, 307-312
- PEARSON, A. W., GREENWOOD, N. M., BUTLER, E. J., CURL, C. L., FENWICK, G. R. (1983): Fishmeal and egg taint. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34, 277-285
- ZENTEK, J., KAMPHUES, J. (2000): Geruchsabweichungen bei Eiern brauner Hennen - Vorkommen auch bei „unkritischer“ Futterzusammensetzung möglich. *Deutsche Tierärztliche Wochenschau* 107, 355-358
- ZENTEK, J., KAMPHUES, J. (2002): Eigeruch bei Tainter-Hennen: Ein praxisrelevantes Problem. *Wiener Tierärztlichen Monatsschrift* 89, 100-106
- ZENTEK, J. (2003): Egg taint - A problem of practical importance. *Lohmann Information* No. 28 / 2003, 3-6

Anschrift der Autoren

Dr. Kristina Reese und Dr. Steffen Weigend
Institut für Tierzucht
Mariensee, FAL
Höltyst. 10
31535 Neustadt

E-Mail: kristina.Reese@fal.de
steffen.weigend@fal.de

Dr. Matthias Schmutz und Prof. Rudolf Preisinger
Lohmann Tierzucht GmbH
Am Seedeich 9-11
27474 Cuxhaven

E-Mail: schmutz@ltz.de
preisinger@ltz.de