

Patricia Leberl

# Einfluss verschiedener Faktoren der Stickstoffversorgung auf den Stickstoff- und Energieumsatz sowie die Methanproduktion beim Wiederkäuer



Cuvillier Verlag Göttingen

Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

Aus dem Institut für Tierernährung  
Universität Hohenheim  
Fachgebiet Tierernährung  
Professor i. R. Drs. Drs. h.c. W. Drochner

Einfluss verschiedener Faktoren der  
Stickstoffversorgung auf den Stickstoff- und  
Energieumsatz sowie die Methanproduktion  
beim Wiederkäuer

Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors  
der Agrarwissenschaften

vorgelegt  
der Fakultät Agrarwissenschaften

von  
Patricia Leberl  
Schwäbisch Gmünd

2009

Die vorliegende Arbeit wurde am 3. Juli 2009 von der Fakultät Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften“ angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung:	24. Juli 2009
1. Prodekan:	Prof. Dr. W. Bessei
Berichterstatter, 1. Prüfer:	Prof. i. R. Drs. Drs. h.c. W. Drochner
Mitberichterstatter, 2. Prüfer	Univ.-Doz. Dr. L. Gruber
3. Prüfer	Prof. Dr. M. A. Grashorn

Die der Arbeit zugrundeliegenden Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen des Graduiertenkollegs Klimarelevante Gase finanziell unterstützt.

### **Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2009  
Zugl.: Hohenheim, Univ., Diss., 2009

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2009

Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen

Telefon: 0551-54724-0

Telefax: 0551-54724-21

[www.cuvillier.de](http://www.cuvillier.de)

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2009

Gedruckt auf säurefreiem Papier

978-3-86955-137-1

## **Meinen Eltern**



# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Einfluss unterschiedlicher N-Quellen und N-Niveaus in Kombination mit verschiedenen Kohlenhydrat-Quellen auf die Methan- und Gasproduktion in vitro.....</b>	<b>7</b>
2.1 Literaturübersicht.....	8
2.1.1 Die Mikrobenpopulation im Pansen.....	8
2.1.1.1 Bakterien.....	8
2.1.1.2 Protozoen.....	16
2.1.1.3 Pilze.....	23
2.1.1.4 Archaea.....	26
2.1.2 Mikrobielle Interaktionen mit Beteiligung der Methanbildner.....	31
2.1.3 Ausgangspunkt für die eigenen Untersuchungen.....	34
2.2 Material und Methoden.....	35
2.2.1 Spendertiere.....	35
2.2.2 Inkubationsmethode.....	35
2.2.3 Substrate.....	36
2.2.4 Bestimmung des verfügbaren N.....	36
2.2.5 Methanmessung.....	37
2.2.6 Statistische Auswertung.....	37
2.3 Ergebnisse.....	39
2.3.1 Einfluss von CHO- und N-Quelle auf Gas- und Methanbildung.....	39
2.3.2 Einfluss des N-Niveaus auf Gas- und Methanbildung.....	40
2.4 Diskussion.....	43
2.5 Literaturverzeichnis.....	53
<b>3 Effekte synchroner bzw. asynchroner Rationsgestaltung auf den N- und Energieumsatz sowie die Methanproduktion bei wachsenden Lämmern.....</b>	<b>71</b>
3.1 Literaturübersicht.....	72
3.1.1 Protein- und N-Umsatz im Pansen.....	72
3.1.1.1 Die mikrobielle Proteinsynthese.....	72
3.1.1.2 Einflussfaktoren auf die mikrobielle Proteinsynthese.....	73
3.1.1.3 Abbaueigenschaften der N- und CHO-Quellen.....	75
3.1.2 Synchroner Rationsgestaltung als Strategie zur Verbesserung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese.....	78



3.3.1 Chemische Zusammensetzung der Ration.....	105
3.3.2 Scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe.....	105
3.3.3 Futteraufnahme.....	106
3.3.4 N-Bilanz.....	107
3.3.5 Energiebilanz.....	108
3.3.6 Energiebewertung.....	109
3.3.7 Methanproduktion.....	111
3.3.8 Mikrobielle Proteinsynthese.....	112
3.3.9 Flüchtige Fettsäuren.....	112
3.4 Diskussion.....	114
3.5 Literaturverzeichnis.....	130

<b>4 Auswirkung von Proteinträgern unterschiedlicher ruminaler Abbaubarkeit und Aminosäurezusammensetzung auf Mast- und Schlachtleistung sowie Nährstoffausscheidung von Mastlämmern.....</b>	<b>147</b>
4.1 Literaturübersicht.....	148
4.1.1 Die Proteinversorgung des Wirtstiers.....	148
4.1.1.1 Limitierung der mikrobiellen Proteinsynthese.....	149
4.1.1.2 Bypassprotein als Proteinquelle.....	150
4.1.1.3 Der AS-Bedarf des Wirtstiers.....	151
4.1.2 Verbesserung der tierischen Leistung als Strategie zur Verminderung Von N- und CH <sub>4</sub> -Eintrag in die Umwelt.....	153
4.1.3 Ausgangspunkt für die eigenen Untersuchungen.....	156
4.2 Material und Methoden.....	157
4.2.1 Versuchstiere und Haltung.....	157
4.2.2 Rationsgestaltung und Fütterung.....	157
4.2.3 Schlachtung und Schlachtkörperbeurteilung.....	158
4.2.4 Probenentnahme vom M. longissimus dorsi.....	161
4.2.5 Bestimmung der Fleischfarbe des M. longissimus dorsi.....	161
4.2.6 Chemische Analyse des M. longissimus dorsi.....	161
4.2.6.1 Bestimmung des intramuskulären Trockensubstanzgehaltes.....	162
4.2.6.2 Bestimmung des intramuskulären Fettgehaltes.....	162
4.2.6.3 Bestimmung des intramuskulären Rohproteingehaltes.....	162
4.2.7 Statistische Auswertung.....	162
4.3 Ergebnisse.....	163

4.3.1 Chemische Zusammensetzung der Ration.....	163
4.3.2 Mastleistung.....	163
4.3.3 Futteraufnahme und Futerverwertung.....	165
4.3.4 Schlachtleistung.....	166
4.3.5 Fleischqualitätsparameter des M. longissimus dorsi.....	168
4.3.6 Nährstoffzusammensetzung des M. longissimus dorsi.....	169
4.4 Diskussion.....	171
4.5 Literaturverzeichnis.....	182
<b>5 Gesamtdiskussion.....</b>	<b>189</b>
5.1 Literaturverzeichnis.....	200
<b>6 Summary.....</b>	<b>203</b>
<b>7 Zusammenfassung.....</b>	<b>207</b>
<b>8 Danksagung.....</b>	<b>211</b>

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Differenzierung der Bakterien hinsichtlich ihrer enzymatischen Ausstattung .....	9
Tabelle 2: Energiequellen der Pansenbakterien .....	10
Tabelle 3: N-Versorgung der Pansenbakterien .....	12
Tabelle 4: Bedeutung von AS für die Protozoenproteinsynthese .....	21
Tabelle 5: Fermentierte Substrate und Fermentationsprodukte von Protozoen .....	22
Tabelle 6: Nutzung verschiedener CHO-Quellen durch Pilze .....	25
Tabelle 7: Methanbildner im Pansen.....	26
Tabelle 8: Konzentration methanogener Archaea in Abhängigkeit von Fütterung und Spezies ..	27
Tabelle 9: Substrate und Wachstumsbedingungen der Pansenmethanbildner .....	29
Tabelle 10: N-Supplementierungsstufen.....	35
Tabelle 11: Modifizierung des Pufferlösung-/Pansensaftverhältnisses pro Inkubationseinheit ...	35
Tabelle 12: Varianzanalyse der Gas- und Methanbildung nach 24-stündiger Inkubation.....	39
Tabelle 13: Einfluss der CHO-Quelle auf Gas- und CH <sub>4</sub> -Produktion in vitro.....	39
Tabelle 14: Einfluss der N-Quelle auf Gas- und CH <sub>4</sub> -Produktion in vitro.....	39
Tabelle 15: Mittlere Gb- und Methanbildung der einzelnen CHO-N-Kombinationen in ml .....	40
Tabelle 16: Parameter der Modellgleichungen der segmentierten quadratischen Funktion zur Berechnung des minimalen N-Bedarfs für eine optimale Gasbildung ( $x_0$ ).....	40
Tabelle 17: Parameter der Modellgleichungen der segmentierten quadratischen Funktion zur Berechnung des minimalen N-Bedarfs für die optimale Methanogenese ( $x_0$ ).....	42
Tabelle 18: In situ Abbaukinetik des Proteinabbaus in verschiedenen Futtermitteln.....	75
Tabelle 19: In situ Abbaukinetik des Stärkeabbaus in verschiedenen Futtermitteln.....	76
Tabelle 20: Effekte synchroner Rationsgestaltung auf mikrob. Proteinsynthese und Leistung....	81
Tabelle 21: Einfluss steigender Fettzulagen auf die Energieverluste in Methan und Kot beim Schaf.....	91
Tabelle 22: Methanproduktion bei Einsatz von Bypass-CHO .....	92
Tabelle 23: Methanproduktion in Abhängigkeit von CHO-Quelle und Fütterungsniveau bei Milchkühen .....	93
Tabelle 24: Wirkung tanninhaltiger Futtermittel auf Verdaulichkeit und Methanproduktion beim Schaf.....	97
Tabelle 25: Rationszusammensetzung .....	100
Tabelle 26: Synchronisierung über die Ruminale N-Bilanz .....	101
Tabelle 27: Nährstoff- und Energiegehalte der Rationen.....	105

Tabelle 28: Prozentuale scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe .....	106
Tabelle 29: Futteraufnahme .....	107
Tabelle 30: N-Bilanz.....	107
Tabelle 31: Energiebilanz .....	108
Tabelle 32: Energiebewertung .....	109
Tabelle 33: CH <sub>4</sub> -Produktion.....	111
Tabelle 34: Mikrobielle Proteinsynthese.....	112
Tabelle 35: Konzentration flüchtiger Fettsäuren in vitro .....	112
Tabelle 36: Methanproduktion unter Anwendung verschiedener Schätzgleichungen.....	123
Tabelle 37: Aminosäuremuster von mikrobiellem Protein, Fleisch und Wolle.....	149
Tabelle 38: Aminosäuren-, und XP- und UDP-Gehalte verschiedener Futtermittel (%).....	152
Tabelle 39: Stickstoff und Methanexkretion in Abhängigkeit vom Leistungsniveau bei Milchkühen.....	154
Tabelle 40: Futtermittel- und Nährstoffzusammensetzung der Futterrationen .....	158
Tabelle 41: Fleischigkeitsklassen.....	160
Tabelle 42: Einteilung in Fettgewebssklassen .....	160
Tabelle 43: Nährstoffzusammensetzung der Ration .....	163
Tabelle 44: Parameter der Mastleistung.....	164
Tabelle 45: Parameter der Futteraufnahme und Futtermittelnutzung .....	165
Tabelle 46: Parameter der Schlachtleistung .....	167
Tabelle 47: Fleischqualitätsparameter des M. longissimus dorsi.....	168
Tabelle 48: Nährstoffzusammensetzung des M. longissimus dorsi .....	170
Tabelle 49: Ergebnisse der Schlachtleistung von Merinolandschafböcken der Prüfstation Grub .....	173
Tabelle 50: Parameter der Fleischfarbe bei der Rasse Merino.....	178
Tabelle 51: N-Ausscheidung in Abhängigkeit von Abbaubarkeit und AS-Zusammensetzung der Futterrationen .....	180
Tabelle 52: nXP-Versorgung in den Bilanzversuchen.....	193
Tabelle 53: Versorgung der Tiere mit wahr verdaulichem nXP und UDP .....	194
Tabelle 54: Lineare Regressionen zwischen den Parametern der N-Versorgung und N-Ansatz	194
Tabelle 55: AS-Zusammensetzung und Proteinqualität von im Mastversuch verwendeten Einzelfuttermitteln.....	195
Tabelle 56: AS-Zusammensetzung und PAF <sub>4</sub> der Futtermittel des Bilanzversuchs.....	195
Tabelle 57: Lineare Regressionen zwischen Energieversorgung und N-Ansatz .....	197

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozentualer Anteil einzelner anthropogener Methanemissionsquellen am weltweiten anthropogenen Methanoutput .....	3
Abbildung 2: Gb- und CH <sub>4</sub> -Produktion Cellulose-NPN .....	41
Abbildung 3: Gb- und CH <sub>4</sub> -Produktion Cellulose-Casein .....	41
Abbildung 4: Gb- und CH <sub>4</sub> -Produktion Stärke-NPN .....	41
Abbildung 5: Gb- und CH <sub>4</sub> -Produktion Stärke-Casein .....	41
Abbildung 6: Gasbildung in Abhängigkeit von der N-Zulagestufe innerhalb der einzelnen CHO-N-Behandlungskombinationen.....	44
Abbildung 7: Gb Cell-NPN in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis.....	47
Abbildung 8: Gb Stärke-NPN in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis .....	47
Abbildung 9: Gb Cell-Casein in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis.....	47
Abbildung 10: Gb Stärke-Cas in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis .....	47
Abbildung 11: Methanbildung in Abhängigkeit von der N-Zulagestufe innerhalb der einzelnen CHO-N-Behandlungskombinationen.....	49
Abbildung 12: Mb Cell-NPN in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis.....	51
Abbildung 13: Mb Stärke-NPN in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis .....	51
Abbildung 14: Mb Cell-Cas in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis.....	51
Abbildung 15: Mb Stärke-Cas in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis .....	51
Abbildung 16: Verläufe asynchroner Freisetzung von Energie und Protein .....	78
Abbildung 17: Beziehung zwischen ME-Versorgung und N-Retention bei den Rationen SL, SM und SS.....	197

## Abkürzungsverzeichnis

a*	relativer Rotwert
Ala	Alanin
Arg	Arginin
AS	Aminosäuren
Asp	Aspartinsäure
Asparag	Asparagin
asy	asynchron
ATP	Adenosintriphosphat
b*	relativer Gelbwert
But.	Butyrivibrio
C <sub>2</sub>	Essigsäure
C <sub>3</sub>	Propionsäure
C <sub>4</sub>	Buttersäure
CHO	Kohlenhydrat(e)
CH <sub>4</sub>	Methan
Citr	Citrullin
Cl.	Clostridium
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
Cys	Cystin
d	Tag
DAPA	Diaminopimelinsäure
DE	verdauliche Energie
dl	Deziliter
DOM	verdauliche organische Masse
dXF	verdauliche Rohfaser
dXL	verdauliches Rohfett
dXP	verdauliches Rohprotein
dXX	verdauliche N-freie Extraktstoffe
E.	Entodinium
F.	Fibrobacter
FA	Futtermaufnahme

FFS	flüchtige Fettsäuren
g	Gramm
Gb	Gasbildung
GE	Bruttoenergie
Glu	Glutamin
Gly	Glycin
gramneg.	gramnegativ
grampos.	grampositiv
GWP	global warming potential (Treibhauspotential)
h	Stunde
H <sub>2</sub>	Wasserstoff
HFT	Hohenheimer Futterwerttest
His	Histidin
Ile	Isoleucin
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change
kg	Kilogramm
kJ	Kilojoule
k <sub>pf</sub>	Verwertung für Protein- und Fettansatz
l	Liter
L*	relative Helligkeit
Leu	Leucin
Lys	Lysin
M.	Megasphaera
ME	umsetzbare Energie
med.	intermediär
Met. LM	metabolische Lebendmasse
MJ	Megajoule
mmol	Millimol
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MP	mikrobielles Protein
Mb	Methanproduktion
MPN	Most probable numbers
N	Stickstoff

N.	Neocallimastix
N <sub>2</sub> O	Distickstoffoxid
NH <sub>3</sub>	Ammoniak
NH <sub>3</sub> -N	Ammoniak-Stickstoff
NPN	Nicht-Protein-Stickstoff
NS	Nukleinsäuren
NSP	Nicht-Stärkepolysaccharide
nXP	nutzbares Rohprotein am Duodenum
OM	organische Masse
Orn	Ornithin
OS	Originalsubstanz
P.	Prevotella
ppb	parts per billion
Pro	Prolin
q	Umsetzbarkeit
R.	Ruminococcus
RDN	ruminal abbaubarer Stickstoff
RDP	ruminal abbaubares Rohprotein
RE	retinierte Energie (Energieretention)
RFE	retinierte Fettenergie
RNB	Ruminale Stickstoffbilanz
RPE	retinierte Proteinenergie
S.	Streptococcus
Sel.	Selenomonas
Ser	Serin
spp	mehrere Spezies
Succ.	Succinivibrio
syn	synchron
TFM	tanninhaltige Futterstoffe
Tg	Teragramm
Thre	Threonin
TM	Trockenmasse
TS	Trockensubstanz
UDP	(im Pansen) unabgebautes Protein

Val	Valin
vs.	versus
XA	Rohasche
XP	Rohprotein
XL	Rohfett
XF	Rohfaser
XX	N-freie Extraktstoffe
z.B.	zum Beispiel
° C	Grad Celsius
%	Prozent

Statistische Begriffe:

>	größer als
<	kleiner als
n.s.	nicht signifikant
**	signifikant
P	Wahrscheinlichkeit
SAS	statistisches Analysensystem
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler



# Kapitel 1

---

## EINLEITUNG

### 1. Einleitung

Die Mikroorganismen im Vormagensystem der Wiederkäuer verfügen über Enzyme zum Abbau von Zellwandbestandteilen pflanzlicher Biomasse, während körpereigene tierische Enzyme diese Verbindungen nicht zu spalten vermögen (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2000). Eine weitere Fähigkeit der Mikroorganismen liegt in der Verwendung Stickstoff (NPN)-haltiger Verbindungen für die mikrobielle Proteinsynthese (HUNGATE, 1966). Das Mikrobenprotein wiederum dient dem Wirtstier nach der Verdauung im Dünndarm als Aminosäurenquelle für die Produktion von Milch und Fleisch. Damit tragen die Wiederkäuer zur Sicherstellung der Proteinversorgung der Menschen bei, ohne gleichzeitig mit ihnen in Nahrungskonkurrenz treten zu müssen.

In der Öffentlichkeit stehen die Wiederkäuer jedoch zunehmend im Fokus aufgrund der mit ihren Verdauungsprozessen verbundenen Nährstoffverluste, die über Pansengase, Kot und Harn an die Umwelt abgegeben werden. Im Vordergrund stehen hierbei das Methan und verschiedene N-Verbindungen, die im Folgenden kurz skizziert werden sollen.

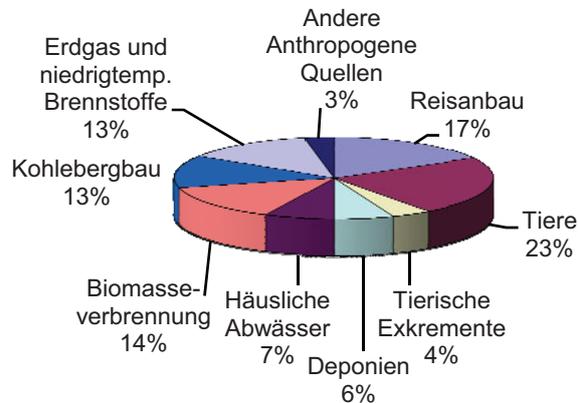
#### Methan:

Methan ( $\text{CH}_4$ ) zählt neben Kohlenstoffdioxid ( $\text{CO}_2$ ), Distickstoffoxid (Lachgas,  $\text{N}_2\text{O}$ ), teilhalogenierten Fluorchlorkohlenwasserstoffen, perfluorierten Kohlenwasserstoffen und Schwefelhexafluorid zu den im Kyoto-Protokoll reglementierten klimarelevanten Gasen, die als Hauptverursacher des anthropogenen Treibhauseffektes gelten.

Die besondere Wirksamkeit des Methans liegt in der geringgradigen Sättigung seiner Absorptionsbanden, die eine wesentlich höhere Intensität der Infrarotenergieabsorption nach sich zieht, woraus ein 23-fach höheres Treibhauspotential (GWP) im Vergleich zum  $\text{CO}_2$  resultiert. Nach neuesten Untersuchungen des Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), einer Organisation der Vereinten Nationen, hat sich die atmosphärische  $\text{CH}_4$ -Konzentration drastisch gegenüber dem vorindustriellen Wert von 715 ppb auf nunmehr 1774 ppb im Jahr 2005 erhöht (IPCC, 2007A).

Der jährliche weltweite Methaneintrag in die Atmosphäre beläuft sich seit Ende der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts auf etwa 600 Tg/Jahr (IPCC, 2001). Natürliche Sumpfgebiete, Reisanbau und die Tierhaltung (KHALIL UND SHAERER, 2000) stehen als Hauptemissionsquellen mit jeweils über 50 Tg  $\text{CH}_4$ /Jahr im Vordergrund. Die beiden Letzteren zählen zu den durch den Menschen verursachten Emissionsquellen, zu denen die landwirtschaftliche Tierhaltung global betrachtet knapp ein Drittel beiträgt (US-EPA, 2006, siehe auch Abbildung 1).

Abbildung 1: Prozentualer Anteil einzelner anthropogener Methanemissionsquellen am weltweiten anthropogenen Methanoutput



(nach KHALIL, 2000)

Die Bedeutung des Sektors Tierhaltung erschließt sich aus der zahlenmäßigen Entwicklung des Viehbestandes, der mit einer zunehmenden Bevölkerungsdichte und den daraus resultierenden Anforderungen an die Ernährungssicherung einhergeht. Ausgehend vom Viehbestand im Jahre 1900 mit weltweit 470 Millionen Rindern, verdreifachte sich diese Zahl auf 1,36 Milliarden Rinder im Jahre 2005, ergänzt durch 1,1 Milliarden Schafe sowie knapp 1 Milliarde Büffel und Ziegen (FAO, 2008), die in ihrer Gesamtheit jährlich etwa 84 Tg CH<sub>4</sub> produzieren (STEINFELD ET AL., 2006). Die Lagerung der tierischen Exkrememente verursacht weitere CH<sub>4</sub>-Emissionen in Höhe von etwa 18 Tg/Jahr (STEINFELD ET AL., 2006).

CH<sub>4</sub> wird fast ausschließlich über die Oxidation mit OH<sup>-</sup> wieder aus der Atmosphäre entfernt, wozu im Durchschnitt 8,4 Jahre benötigt werden (IPCC, 2001). Diese atmosphärische Verweildauer ist im Vergleich zu CO<sub>2</sub> mit 120 Jahren relativ gering. Deshalb besteht bei CH<sub>4</sub> die Chance, bereits durch kurzfristige Maßnahmen Erfolge in der Eindämmung des Treibhauseffektes zu erzielen (CRUTZEN, 1992). Das CH<sub>4</sub>-Minderungspotential der Tierhaltung wird auf etwa 15 % geschätzt, bei Kopplung an ein verbessertes Gülle-Management sollen bis zu 40 % möglich sein (ZEDDIES, 2002).

### Stickstoff:

Umweltrelevante N-Verbindungen stellen Ammoniak (NH<sub>3</sub>), Nitrat und Stickoxide dar. Nach DÄMMGEN UND HAENEL, (2008) stammen rund 90 % des emittierten NH<sub>3</sub> aus der Landwirtschaft. Die Schadwirkung der NH<sub>3</sub>-Emissionen besteht vor allem in der Versauerung und Eutrophierung des Bodens bzw. der Oberflächengewässer. Ausgangspunkt sind insbesondere Ammoniumsalze und Harnstoff in Handels- und Wirtschaftsdüngern, die unter

aeroben Bedingungen in den oberen Bodenschichten über den Prozess der Nitrifikation in Nitrat umgewandelt werden. Sofern dieses nicht durch Pflanzen genutzt wird, kann es zu einer Verlagerung und Auswaschung des Nitrats oder infolge von Denitrifikation zu Stickoxid-, unter anderem Lachgasemissionen, kommen (SCHEFFER/SCHACHTSCHABEL, 1992). Lachgasemissionen sind einerseits schädlich für die Ozonschicht, da bei der Oxidation von Lachgas Ozon verbraucht wird, andererseits ist Lachgas ein klimarelevantes Gas mit einem GWP von 296 im Vergleich zu CO<sub>2</sub> (IPCC, 2001). Das hohe GWP sowie eine mittlere atmosphärische Verweildauer von 114 Jahren (IPCC, 2001) verdeutlichen die Brisanz des Anstiegs der Lachgaskonzentration in der Atmosphäre von vorindustriellen 270 ppb auf 319 ppb im Jahr 2005 (IPCC, 2007A). Der Anteil der Landwirtschaft an den globalen anthropogenen Lachgasemissionen beträgt rund 60 % (IPCC, 2007B).

Das Niveau der dargestellten tierischen Emissionen bzw. Ausscheidungen ist jedoch nicht konstant, sondern von der jeweiligen Nährstoffversorgung und -verwertung abhängig, auf welche wiederum durch die Fütterung Einfluss genommen werden kann. Demnach kommt der Rationsgestaltung eine Schlüsselrolle zu, da die Effizienz der Nährstoffnutzung verbessert wird, wenn es gelingt, einerseits den Einsatz der in der Ration enthaltenen Nährstoffe zu optimieren und andererseits die mit den Exkrementen und dem Ruktus abgegebenen N- und CH<sub>4</sub>-Emissionen zu vermindern.

Schwerpunkte der vorliegenden Arbeit lagen in der Untersuchung

- des Einflusses unterschiedlicher N-Quellen und N-Niveaus in Kombination mit verschiedenen Kohlenhydrat (CHO)-Quellen auf die Methan- und Gasproduktion in vitro (Kapitel 2)
- der Effekte synchroner bzw. asynchroner Rationsgestaltung auf den N- und Energieumsatz sowie die Methanproduktion bei wachsenden Lämmern (Kapitel 3)
- der Auswirkung von Proteinträgern unterschiedlicher ruminaler Abbaubarkeit und Aminosäuren (AS)-Zusammensetzung auf Mast- und Schlachtleistung sowie Nährstoffausscheidung von Mastlämmern (Kapitel 4)

### Literaturverzeichnis

**BREVES, G. UND S. LEONHARD-MAREK (2000)**

Verdauungsvorgänge in den Vormägen, in: Physiologie der Haustiere, Hrsg. W. v. Engelhardt und G. Breves, Enke im Hippokrates Verlag

**CRUTZEN, P. J. (1992)**

Die Bedeutung des Methans für das Erdklima und seine Beeinflussung durch den Menschen in Deutschland, Publ. Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz Deutschland

**DÄMMGEN, U. UND H.-D. HAENEL (2008)**

Emissions of greenhouse gases and gaseous air pollutants – a challenge for animal nutrition, Proc. Soc. Nutr. Physiol. 17, 163-167

**FAO (2008)**

FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/site/573/default.aspx#ancor>

**HUNGATE, R. E. (1966)**

The rumen and its microbes, Academic Press, New York

**IPCC (2001)**

Climate Change 2001: Synthesis Report. A Contribution of Working Groups I, II, and III to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Hrsg. R.T. Watson und das Core Writing Team Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, and New York, NY, USA

**IPCC (2007A)**

Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Hrsg. S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor und H.L. Miller, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA

**IPCC (2007B)**

Climate Change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Hrsg. B. Metz, O.R. Davidson, P.R. Bosch, R. Dave und L.A. Meyer, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA

**KHALIL, M.A.K. (2000)**

Atmospheric methane: An introduction, in: Atmospheric Methane - Its Role in the global environment, Hrsg. M.A.K. Khalil, Springer Verlag Berlin/Heidelberg

**KHALIL, M.A.K. UND M. J. SHAERER (2000)**

Sources of methane, in: Atmospheric Methane - Its Role in the global environment, Hrsg. M.A.K. Khalil, Springer Verlag Berlin/ Heidelberg

**SCHEFFER, F./SCHACHTSCHABEL, P. (1992)**

Lehrbuch der Bodenkunde, Hrsg.: P. Schachtschabel, H.-P. Blume, G. Brümmer, K.-H. Hartge und U. Schwertmann unter Mitarbeit von W. R. Fischer, M. Renger und O. Strelbel, 13. Auflage, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart

**STEINFELD, H., P. GERBER, T. WASSENAAR, V. CASTEL, M. ROSALES UND C. DE HAAN (2006)**

Livestock's long shadow, environmental issues and options, FAO, Rom, Italien

**US-EPA (2006)**

Global anthropogenic non-CO<sub>2</sub> greenhouse gas emissions  
United States Environmental Protection Agency,  
<http://www.epa.gov/nonco2/econinv/downloads/GlobalAnthroEmissionsReport.pdf>

**ZEDDIES, J. (2002)**

Vermeidungspotenziale der Landwirtschaft: Ziele und Handlungsoptionen,  
in: Globale Klimaerwärmung und Ernährungssicherung, 34. Hohenheimer  
Umwelttagung, Hrsg. R. Böcker, Heimbach Verlag Stuttgart

---

# Kapitel 2

---

EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER N-QUELLEN  
UND N-NIVEAUS IN KOMBINATION MIT  
VERSCHIEDENEN KOHLENHYDRAT-QUELLEN AUF  
DIE METHAN- UND GASPRODUKTION IN VITRO

### 2.1 Literaturübersicht

#### 2.1.1 Die Mikrobenpopulation im Pansen

Das Vormagensystem der Wiederkäuer bietet opportune anaerobe Umweltbedingungen (Temperatur, Feuchtigkeit und pH-Wert) für die Besiedlung durch ein breites Spektrum an Mikroorganismen (JEROCH ET AL., 2008), welches sich aus Bakterien, Protozoen, Archaea, Pilzen einschließlich Hefen und Bakteriophagen zusammensetzt (MACKIE ET AL., 2002).

Die Fermentation der Mikroben stellt im Ökosystem des Pansens bei kontinuierlicher Zufuhr von Substraten die Umwandlung der pflanzlichen Nährstoffe in für den Wiederkäuer nutzbare Stoffwechselprodukte sicher. Je nach Art der Pflanzensubstrate bilden sich charakteristische Populationen innerhalb der jeweiligen Mikrobiota heraus, die mit ihren Nährstoffansprüchen hinsichtlich Energie- und N-Versorgung im Folgenden charakterisiert werden sollen.

##### 2.1.1.1 Bakterien

Über 200 verschiedene Bakterienspezies besiedeln den Pansen, wobei nur ungefähr 30 in einer Konzentration von  $>10^7$ /ml vorkommen (CZERKAWSKI, 1986; BALDWIN UND ALLISON, 1983). Die bakteriellen Gesamtkeimzahlen sind weit höher als die der Protozoen und Pilze (DEHORITY, 2003) und können bis zu  $10^{11}$  Zellen/ml betragen (HUNGATE, 1966).

Die Differenzierung der Pansenbakterien kann anhand verschiedener Kriterien erfolgen. Eine Möglichkeit ist die Reaktion der Anfärbbarkeit in grampositive und gramnegative Spezies. Letztere sind besonders zahlreich bei hohen Raufutteranteilen in der Ration, während grampositive, die in der Regel zwischen 5 und 30 % der Gesamtzahl betragen (HUNGATE, 1966) durch kraftfutterbetonte Rationen gefördert werden (LING, 1990).

CHENG UND COSTERTON (1980) unterscheiden die Bakterien nach ihrer Lokalisation in frei im Pansensaft vorkommende oder an die Pansenwand bzw. an Digestapartikel angeheftete, welche bis zu 75 % des Gesamtanteils ausmachen können (ØRSKOV UND RYLE, 1990). Insbesondere die cellulolytische Flora ist eng mit den Futterpartikeln über extrazelluläre Glykokalyxstrukturen verbunden (CHENG UND COSTERTON, 1980)

In der vorliegenden Arbeit erfolgt die Einteilung der Bakterien vorrangig unter dem Aspekt ihrer Fermentationscharakteristika (siehe Tab. 1), da die relative Anzahl der einzelnen Spezies stark durch die zur Verfügung stehenden Substrate beeinflusst wird (ØRSKOV UND RYLE, 1990).

## Kapitel 2

Tabelle 1: Differenzierung der Bakterien hinsichtlich ihrer enzymatischen Ausstattung

cellulolytisch <sup>a</sup>	hemicellulo-lytisch <sup>a</sup>	pectinolytisch <sup>a</sup>	amylolytisch und dextrinolytisch <sup>a</sup>	saccharolytisch <sup>b</sup>
<b>F. succinogenes</b>	<b>But. fibrisolvans</b>	<b>But. fibrisolvans</b>	<b>S. bovis</b>	<b>P. ruminicola</b>
<b>R. albus</b>	<b>P. ruminicola</b>	<b>P. ruminicola</b>	<b>R. amylophilus</b>	<b>But. fibrisolvans</b>
<b>R. flavefaciens</b>	<b>R. flavefaciens</b>	<b>L. multiparus</b>	<b>Succ. amylolytica</b>	<b>M. elsdenii</b>
But. fibrisolvans	<b>R. albus</b>		<b>Sel. ruminantium</b>	<b>Sel. ruminantium</b>
E. cellulosolvans Clostridium sp.	Eubacterium sp.	Peptostreptococcus	Succ. dextrinosolvans	

<sup>a</sup> nach DEHORITY, 2003; <sup>b</sup> nach BALDWIN UND ALLISON, 1983 Fettdruck kennzeichnet die jeweiligen Hauptspezies

### 2.1.1.1 Nährstoffversorgung der Bakterien

#### Energieversorgung

Der Energiebedarf der Bakterien wird in erster Linie durch die Fermentation von Kohlenhydraten (CHO), Polyalkoholen und organischen Säuren gedeckt (GIESECKE, 1973), wobei die einzelnen Spezies aus dem gesamten Spektrum meist nur wenige Substrate nutzen können (siehe Tabelle 2) und daraus die Besetzung einer charakteristischen ökologischen Nische durch verschiedene Substrattypen resultiert.

So sind die cellulolytischen Spezies *F. succinogenes* und *R. flavefaciens* beispielsweise in der Lage, kristalline Cellulose abzubauen, während *R. albus* und einige Stämme *But. fibrisolvans* lediglich die leichter angreifbare amorphe Cellulose abbauen können (PETTIPHER UND LATHAM, 1979AB; BRYANT, 1973; HALLIWELL UND BRYANT, 1963; PRINS, 1977). Als weitere CHO-Quellen dienen den Cellulolyten Oligo- Tri- und Disaccharide aus dem Celluloseabbau, nicht jedoch Monosaccharide (BALDWIN UND ALLISON 1983) mit Ausnahme von *But. fibrisolvans* und teilweise *F. succinogenes* (HUNGATE, 1966).

Die cellulolytischen Stämme vermögen ebenfalls Hemicellulosen abzubauen, einige Stämme *F. succinogenes* und *R. flavefaciens* sind jedoch nicht in der Lage das Hydrolyseprodukt Xylan zu nutzen (DEHORITY, 1973; DEHORITY UND SCOTT, 1967), dagegen können viele Nichtcellulolyten Xylan fermentieren (COEN UND DEHORITY, 1970). Nach DEHORITY UND GRUBB (1976) sowie HENNING (1979) sind 60 % der kulturfähigen Bakterien im Pansen befähigt, auf Xylan als alleiniger CHO-Quelle zu wachsen.

Stärke kann innerhalb der Cellulolyten nur von *B. fibrisolvans* und einzelnen Stämmen *F. succinogenes* verdaut werden (RUSSELL, 1984), während für viele Bakterien, die Stärke hydrolysieren, wiederum Cellulose nicht als Substrat in Frage kommt (ØRSKOV UND RYLE, 1990).

## Kapitel 2

Alle Hauptamyolyten (siehe Tab. 2) fermentieren Stärke, ausgenommen einige Stämme von *Sel. ruminantium* (BRYANT, 1963). Als Besonderheit unter den Amyolyten vermag *Sel. ruminantium* auf Cellulose als alleiniger Energiequelle zu wachsen, obwohl es keine cellulolytische Enzymausstattung aufweist (SCHEIFINGER UND WOLIN, 1973). Neben einem außergewöhnlich breiten Substratspektrum zeigt *Sel. ruminantium* auch Substratpräferenzen, indem Stamm HD4 Maltose, Cellobiose oder Lactat nicht nutzt, solange Glucose, Xylose oder Saccharose verfügbar sind (PRINS UND CLARKE, 1980).

Tab. 2: Energiequellen der Pansenbakterien (modifiziert nach RUSSELL (1984) und WEIMER, (1996))

	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	<i>Ruminococcus albus</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	<i>Prevotella ruminicola</i>	<i>Ruminobacter amylophilus</i>	<i>Selenomonas ruminantium</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Succinimonas amyolytica</i>	<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	<i>Eubacterium ruminantium</i>	<i>Megasphaera elsdenii</i>	<i>Lachnospira multipara</i>	<i>Anaerovibrio lipolytica</i>
<b>Poly-/</b>														
<b>Oligosaccharide</b>														
Cellulose	+	+	+	+			+							
Stärke	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Pentosane	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
Xylan	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Pectin	-	-	-	+	+	-		-		+	-	-	+	
Dextrin	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<b>Disaccharide</b>														
Cellobiose	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-
Maltose	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Saccharose	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-
<b>Monosaccharide</b>														
Glucose	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Fructose	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+
Galactose	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
<b>Organische Säuren</b>														
Lactat				-	-		+	-	-		-	+		-
Succinat							+							
<b>Lipide</b>														
Glycerol	-	-	-		-	-	+	-	-	-	-	+	-	+

+ Majorität der Stämme nutzt dieses Substrat

- Majorität der Stämme kann dieses Substrat nicht nutzen

## Kapitel 2

---

Auch die Stärkeabbauprodukte Dextrin und Maltose werden von den Amyolyten fermentiert, Mono- und Disaccharide können jedoch lediglich *Sel. ruminantium* und *S. bovis* zur Energiegewinnung heranziehen (HUNGATE, 1966).

Pectin als alleinige Energiequelle dient den Stämmen von *P. ruminicola*, *B. fibrisolvans* und *L. multiparus* (DEHORITY, 1969), darüber hinaus kann Pectin auch von Stämmen von *Succ. dextrinosolvans*, *Peptostreptococcus* und Spirochaeten zur Energiegewinnung herangezogen werden (ZIOLECKI, 1979; ZIOLECKI UND WOJCIECHOWICZ, 1980), während die Ruminococci und *S. bovis* zwar Pectinasen besitzen, jedoch nicht in der Lage sind, die daraus resultierenden Fermentationsprodukte in Form von Uronsäuren zu fermentieren (GRADEL UND DEHORITY, 1972; MORRIS UND VAN GYLSWYK, 1980).

Die saccharolytischen Spezies nutzen Mono- und Disaccharide zur Energiegewinnung, davon ausgenommen sind Cellobiose und Galactose bei *M. elsdenii*, welches zusätzlich auf Lactat und Glycerol wachsen kann (HUNGATE, 1966).

### **N-Versorgung**

Die N-Versorgung der Pansenbakterien ist komplex, die Haupt-N-Quellen stammen zumeist aus dem Futterprotein, welches in mehreren Stufen unter Involvement vieler verschiedener mikrobieller Proteasen über Peptide und AS schließlich zu Ammoniak abgebaut wird (WALLACE ET AL., 1997).

Auch Nichtproteinstickstoff (NPN)-Verbindungen wie Amide, Amine, AS und Nitrat, sowie Harnstoff oder Ammoniumsalze, teils aus dem Futter, teils aus endogenen Herkünften werden fermentiert (LENG UND NOLAN, 1984; SCHWAB ET AL., 2005; ERFLE ET AL., 1977).

Aus der Beteiligung einer Vielzahl verschiedener Bakterienspezies an der Bereitstellung der N-Quellen resultieren unterschiedliche Ansprüche an die N-Versorgung, da nicht alle Bakterien dasselbe N-Nutzungsmuster aufweisen (siehe Tab. 3).

### Abbau und Nutzung von Protein

Im Gegensatz zur Differenzierung der Bakterien hinsichtlich ihrer Enzymausstattung für die CHO-Fermentation kann dieses Schema für Proteolyten nicht angewendet werden, da keine Bakteriengruppe die proteolytische Nische im Pansen obligat für sich beansprucht. Nach Untersuchungen von COTTA UND HESPELL (1984) und WALLACE (1996) weisen 40 % und mehr der isolierten Spezies proteolytische Aktivität auf. Zu ihnen zählen *Prevotella* spp., *R. amylophilus*, *Sel. ruminantium*, *But. fibrisolvans*, *S. bovis* (WALLACE UND BRAMMAL, 1985; WALLACE ET AL., 1997), wobei *P. ruminicola* und *But. fibrisolvans* als dominierend von

## Kapitel 2

ATTWOOD UND REILLY (1995) und WALLACE ET AL. (1997) angeführt werden. Beide können gleichzeitig auch mit Protein als alleiniger N-Quelle überleben (HAZLEWOOD UND NUGENT, 1978; COTTA UND HESPELL, 1986). Auch *S. bovis* ist in der Lage auf Casein zu wachsen (RUSSELL ET AL., 1981).

Der bakterielle Beitrag zum Proteinabbau besitzt einen höheren Stellenwert im Vergleich zu Protozoen und Pilzen (SCHWAB ET AL., 2005). Von BROCK ET AL. (1982) wird die bakterielle Proteaseaktivität 6-10 fach höher als die protozoale eingestuft.

Tabelle 3: N-Versorgung der Pansenbakterien, modifiziert nach RUSSELL (1984)

	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	<i>Ruminococcus albus</i>	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	<i>Prevotella ruminicola</i>	<i>Ruminobacter amylophilus</i>	<i>Selenomonas ruminantium</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Succinomonas amylolytica</i>	<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	<i>Eubacterium ruminantium</i>	<i>Megasphaera elsdenii</i>	<i>Lachnospira multipara</i>	<i>Clostridium aminophilum</i>
Proteinabbau	-	-	-	+	+	+	+	+		?	+	-	+	+
Proteinnutzung	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Peptidabbau	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Peptidnutzung	+	-	-	-	±	-	-	+	-	-	-	-	+	+
AS-Abbau	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+
AS-Nutzung	±	+	+	+	±	-	+	+	-	+	+	+	+	+
NH <sub>3</sub> -Nutzung	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+		+	-

+ Majorität der Stämme nutzt dieses Substrat                      – Majorität der Stämme kann dieses Substrat nicht nutzen

### Abbau und Nutzung von Peptiden

Nach der Hydrolyse des Proteins zu Oligopeptiden werden diese durch bakterielle Peptidasen rasch abgebaut und Peptide sind nur dann in größeren Mengen vorhanden, wenn Protein schnell fermentiert wird (NUGENT UND MANGAN, 1981).

Bei der Peptidhydrolyse handelt es sich um einen zweistufigen Prozess, beginnend mit einer Aminopeptidaseaktivität, die als Dipeptidylpeptidase Dipeptide von der Peptidkette abspaltet (WALLACE ET AL., 1993; WALLACE, 1996; WEBB, 1992). *P. ruminicola* ist die wichtigste bakterielle peptidolytische Spezies (WALLACE ET AL., 1990) mit besonders ausgeprägter Dipeptidylpeptidaseaktivität in Form von vier Serinproteasen (WALLACE UND MCKAIN, 1991; MCKAIN ET AL., 1992), auch unter dem Aspekt einer potentiell enorm hohen Populationsdichte von bis zu 60 % der gesamten bakteriellen Population in vivo bei Kühen mit Grassilagefütterung (VAN GYLSWYK, 1990).

## Kapitel 2

---

Herrscht jedoch, beispielsweise bei konzentratreicher Fütterung, eine höhere Konzentration an *S. bovis* gegenüber *P. ruminicola* vor, dominiert dessen Leucinaminopeptidaseaktivität, welche zur Abspaltung einzelner AS tendiert (WALLACE UND BRAMMAL, 1985; RUSSELL UND ROBINSON, 1984).

Die zweite Stufe des Peptidabbaus besteht in der Spaltung der erhaltenen Dipeptide in AS. Neben *Prevotella* spp. besitzen *F. succinogenes* und *But. fibrisolvens*. *Lachnospira*, *Selenomonas* spp. und *M. elsdenii* die dafür notwendige Dipeptidaseaktivität (ATASOGLU UND WALLACE, 2003), welche im Falle von *M. elsdenii* bei gleichzeitiger Besiedlung des Pansens mit ciliaten Protozoen unterdrückt wird (WALLACE UND MCKAIN, 1991).

*Prevotella* spp. ist in der Lage Oligopeptide, nicht jedoch Tri- oder Dipeptide als N-Quelle zu nutzen (DEHORITY, 2003). Für *S. bovis* sind kurze Peptide essentiell (COTTA UND RUSSELL, 1982), außerdem können *Lachnospira* (BRYANT, 1984) und *Cl. aminophilum* Peptide zu ihrer N-Versorgung heranziehen (PASTER ET AL., 1993).

### Abbau von Aminosäuren, Harnstoff, Nitrat und Nukleinsäuren

Bis vor einigen Jahren wurden *But. fibrisolvens*, *M. elsdenii*, *P. ruminicola* und *Sel. ruminantium* als hauptverantwortlich für die AS-Deaminierung angeführt (BLADEN ET AL., 1961), jedoch weisen diese Spezies nur eine niedrige Aktivität auf. Ende der 80er Jahre konnten von RUSSELL ET AL. (1988) und CHEN UND RUSSELL (1989) eine weitere, weniger zahlreiche, jedoch deutlich aktiver Ammoniak produzierende Gruppe Bakterien isoliert werden, bei denen es sich um *Peptostreptococcus anaerobius*, *Cl. aminophilum* und *Cl. sticklandii* handelte (PASTER ET AL., 1993). Diese Bakteriengruppe fermentiert obligat AS. Von ATTWOOD ET AL. (1998), MCSWEENEY ET AL. (1999) und ESCHENLAUER ET AL. (2002) wurden in der Zwischenzeit weitere sogenannte Hyper-Ammoniak-produzierende (HAP)-Spezies wie *Eubacterium* spp, *Fusobacterium* spp, *Acidaminococcus* spp und *Desulfomonas* spp. isoliert.

Aus einem anderen Grund ist der Abbau bestimmter AS besonders wichtig, da hierbei Valin, Leucin und Isoleucin in Isobuttersäure, Isovaleriansäure und 2-Methylbuttersäure umgewandelt werden können. Diese verzweigtkettigen flüchtigen Fettsäuren besitzen einen stark stimulierenden Effekt auf die vorherrschenden Cellulolyten und bestimmte Spezies Nichtcellulolyten oder sind für deren Wachstum sogar essentiell (ALLISON UND BRYANT, 1958; 1963, ALLISON ET AL., 1959; BRYANT, 1973; BRYANT UND ROBINSON 1961).

Der Harnstoff im Pansen stammt entweder aus dem Futter oder aus rezykliertem Speichelharnstoff und durch die Pansenwand diffundiertem, als Teile des ruminohepatischen Kreislaufs (KENNEDY UND MILLIGAN, 1980). Die Hydrolyse des Harnstoffs in Ammoniak und

## Kapitel 2

---

CO<sub>2</sub> erfolgt mittels bakterieller Ureasen, die etwa 5 % der Pansenisolate aufweisen, darunter die strikt anaeroben Spezies *Succ. dextrinosolvens*, bestimmte Stämme *Sel. ruminantium*, *P. ruminicola*, *R. bromii*, *Bifidobacterium*, *Butyrivibrio* und *Treponema* (YOKOYAMA UND JOHNSON, 1988). Auch geringere Populationen fakultativ anaerober Bakterien wie *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, und *Corynebakterium* sind mit hoher ureolytischer Aktivität ausgestattet (CHENG UND COSTERTON, 1980).

Nitrat wird über Nitrit zur N-Quelle Ammoniak reduziert (LEWIS, 1951). Dieser Prozess ist in vivo jedoch nur in begrenztem Umfang möglich, da bei erhöhten NO<sub>3</sub>-Gehalten im Futter die Gefahr einer Nitritvergiftung für das Wirtstier droht. Denn bei einer Nitritakkumulation im Pansen gelangt Nitrit durch Resorption über die Pansenwand ins Blut und verursacht durch Nitritreduktion oder Nitritoxidation die Umwandlung von Hämoglobin in Methämoglobin wodurch ein Sauerstoffmangel im Blut induziert wird (ULBRICH ET AL., 2004).

Beim Nukleinsäureabbau im Pansen nehmen Bakterien nur einen untergeordneten Stellenwert ein. FLINT UND THOMSON (1990) berichten über Nucleasen bei Stämmen von *P. ruminicola*, *F. succinogenes*, *Sel. ruminantium* und *Lachnospira multipara*.

### Nutzung von Aminosäuren und Ammoniak

In ihrer Gesamtheit vermögen Bakterien mit Ammoniak als alleiniger N-Quelle ihre Versorgung bei niedrigem bis mittlerem Leistungsniveau über längere Zeit sicherzustellen, was LOOSLI ET AL. bereits 1949 an wachsenden Lämmern mittels einer dreimonatigen Harnstoff-N-Fütterung bei positiver N-Bilanz und VIRTANEN (1966) bei laktierenden Milchkühen demonstrieren konnten. Diesem Sachverhalt zur Folge besitzen Bakterien in ihrer Gesamtheit keinen Aminosäuren-, Peptid- oder Proteinbedarf.

Jedoch wird das volle Leistungsvermögen der Mikroben erst ausgeschöpft, wenn N zusätzlich in Form von Protein, Peptiden und Aminosäuren zur Verfügung steht, da diese N-Quellen das Wachstum verschiedener Bakterien stimulieren (HUME, 1970; MAENG UND BALDWIN, 1976; ARGYLE UND BALDWIN, 1989). Einige isolierte Bakterienstämme (6%) wiesen in einer Untersuchung von BRYANT UND ROBINSON (1963) sogar einen absoluten Bedarf an Casein auf, weitere 56 % der isolierten Bakterienstämme wuchsen mit Caseinhydrolysat oder Ammoniak, während 25 % einen absoluten Bedarf an Ammoniak zeigten.

Besonders interessant ist in derselben Untersuchung die Präferenz verschiedener Bakterien für eine bestimmte N-Quelle, sobald sie die Wahl haben. So bevorzugten *Lach. multipara*, *S. bovis*, *Sel. ruminantium*, *But. fibrisolvens* und *Succ. dextrinosolvens* AS-N gegenüber Ammoniak-N. Einige Stämme *P. ruminicola*, *Sel. ruminantium*, *S. bovis*, *M. elsdenii* und *But. fibrisolvens*

## Kapitel 2

---

benötigen spezifische AS (FORSBERG, 1978; COTTA UND RUSSELL, 1982). Aus Tabelle 3 geht die N-Nutzung der einzelnen Spezies hervor, bemerkenswert ist, dass zwar viele AS nutzen können, jedoch nur wenige auf AS bei Fehlen einer Energiequelle aus CHO zu überleben vermögen, wie beispielsweise *M. elsdenii* oder *Cl. aminophilum* (RUSSELL, 1984; ATASOGLU UND WALLACE, 2003).

Die meisten Streptokokken weisen einen komplexen Nährstoffbedarf auf und benötigen mindestens acht AS (RUSSELL, 1998), aber *S. bovis* kann Ammoniak als alleinige N-Quelle nutzen (WOLIN ET AL., 1959; PRESCOTT ET AL., 1959; RUSSELL ET AL., 1981).

Betrachtet man die Untersuchung von BRYANT UND ROBINSON (1963) aus einem anderen Blickwinkel, so waren mehr als 80 % der Bakterienkulturen in der Lage auf Ammoniak als alleiniger N-Quelle zu wachsen. Demnach ist Ammoniak als zentrale Größe der N-Versorgung einer Vielzahl von Bakterien zu betrachten, rund 50-80 % des bakteriellen N-Pools stammen aus dem Ammoniak des Pansensaftes (FIRKINS ET AL., 1987). Nach SATTER UND SLYTER (1974) ist eine Ammoniakkonzentration von 3 mM ausreichend für das Wachstum ammoniaknutzender Bakterienstämme.

Die cellulolytischen Bakterien *F. succinogenes*, *R. albus*, *R. flavefaciens*, *B. fibrisolvans*, *E. cellulosolvans* besitzen einen absoluten  $\text{NH}_3$ -Bedarf (BRYANT UND ROBINSON 1961, 1962; HUNGATE, 1966), wobei *B. fibrisolvans* in Stämme zu trennen ist, für die  $\text{NH}_3$  essentiell ist und Stämme die entweder  $\text{NH}_3$  oder ein AS-Gemisch nutzen können (DEHORITY, 2003).

Für das Wachstum von *R. amylophilus* ist  $\text{NH}_3$  ebenfalls erforderlich, AS jedoch nicht (BLACKBURN; 1968, MIURA ET AL., 1980), dennoch werden sie begrenzt genutzt (HUNGATE, 1966). *Prevotella* spp. nutzen für ihre N-Versorgung  $\text{NH}_3$  (DEHORITY, 2003), jedoch keine freien AS, einige Stämme *P. ruminicola* wachsen schwach auf AS, dagegen sehr viel besser bei Austausch gegen Caseinhydrolysat (PITTMAN UND BRYANT, 1964).

Nach COOK (1976) kommt  $\text{NH}_3$  für ureolytische Bakterien nicht als N-Quelle in Frage.

## Kapitel 2

---

### 2.1.1.2 Protozoen

Die obligat anaeroben Protozoen befinden sich entweder frei in der Pansenflüssigkeit oder sind gebunden an Pflanzenpartikel bzw. ans Pansenepithel und gliedern sich in Flagellaten und Ciliaten (BONHOMME, 1990). Die Flagellaten treten in Konzentrationen von  $10^3$ - $10^4$  Zellen pro ml auf und leisten aufgrund ihrer geringen Größe von 4-14  $\mu\text{m}$  nur einen untergeordneten Beitrag zur mikrobiellen Biomasse des Pansens (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2000). Lediglich fünf Spezies konnten bislang den Flagellaten zugeordnet werden, über ihre Physiologie und Ernährungsgewohnheiten ist bis auf die Fähigkeit der Aufnahme von Bakterien nur wenig bekannt (BOHATIER, 1990).

Die Ciliaten, klassifiziert in die zwei Ordnungen Trichostomata und Entodiniomorpe (BONHOMME, 1990), sind mit  $10^5$ - $10^8$  Zellen/ml, was einem Anteil von 40-80 % der mikrobiellen Masse entspricht, die metabolisch wichtigste Komponente des Pansenökosystems (HARRISON UND MC ALLAN, 1980). Die im Pansen am häufigsten vorkommenden Spezies entstammen aus den Familien der Ophryoscoleciden und der Isotrichiden (MACKIE ET AL., 2002), wobei letztgenannte zusammen mit den Familien Buetschliidae, Blepharocorythiden und Paraisotricha als Holotricha bezeichnet werden, welche generell in der Minderheit gegenüber den dominierenden Entodiniomorphen Protozoen sind (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992).

#### 2.1.1.2.1 Nährstoffversorgung der Protozoen

Die Entodiniomorphen stehen mit den Holotricha nicht in direkter Konkurrenz um verfügbare Nährstoffe, da erstere bevorzugt Partikelmaterial aufnehmen, während letztere vorwiegend lösliche Kohlenhydrate und NSP nutzen (WILLIAMS UND COLEMAN, 1997). Außerdem besitzen die verschiedenen Genera spezifische Fähigkeiten im Nährstoffabbau.

### Energieversorgung

#### Entodiniomorpe:

Der Beitrag ciliater Protozoen zur Stärkeverdauung ist beträchtlich (COLEMAN, 1986B). Stärke wird von allen Entodiniomorphen binnen weniger Sekunden aufgenommen, wobei kleine Stärkekörner rascher aufgenommen werden als große. Der auf diese Weise gewonnene Stärkevorrat ist für 24 h bedarfsdeckend (COLEMAN, 1978). *E. spp* tritt besonders zahlreich bei getreidereicher Fütterung auf und benötigt Stärke obligat zum Wachstum in vitro im Gegensatz zu anderen Entodiniomorphen (BONHOMME, 1990). *E. caudatum* nutzt lösliche Stärke und Maltose, in geringerem Umfang auch Cellobiose, Saccharose und Glucose (COLEMAN, 1964). Die aufgenom-

## Kapitel 2

---

menen Stärkekörner werden im Endoplasma zu Maltose und Glucose abgebaut. Glucose wird phosphoryliert zu Glucose-6-Phosphat, welches zur Energiegewinnung über die Glykolyse genutzt wird (COLEMAN 1964; HOSHINO ET AL., 1982) oder für die Synthese intrazellulärer amylopektinhaltiger Granula, welche bei stärkereicher Ration einen Anteil von etwa 38 % der TM erreichen können (JOUANY UND THIVEND, 1972).

Entodinen sind nicht in der Lage, auf Cellulose als alleinigem Substrat zu wachsen, können aber Cellulose bei Wachstum auf Stärke verdauen, doch beträgt das Ausmaß der Celluloseverdauung nur etwa 5 % der Kapazität von cellulolytischen Protozoen (COLEMAN, 1986A). Dagegen kann bei den großen Entodiniomorphen *Polyplastron multivesiculatum*, *Enoploplastron triloricastrum*, *Diplodinium* sp, *Eudiplodinium* sp Stärke als alleiniges Substrat durch Cellulose in vitro ersetzt werden (HUNGATE, 1966; NAGA UND EL SHAZLY, 1968; COLEMAN ET AL., 1976). Daneben besitzen sie Enzyme zum Abbau von Strukturkohlenhydraten, wobei bis zu einem Drittel des Zellwandabbaus im Pansen an Protozoen gekoppelt ist (DEMEYER, 1981; ORPIN, 1984). Des weiteren sind die cellulolytischen Ciliaten *Polyplastron multivesiculatum*, *Diploplastron*, *Eremoplastron bovis*, *Ophryoscolex tricornatus*, *Eudiplodinium medium*, *Epidinium ecaudatum* mit höherer hemicellulolytischer Aktivität ausgestattet im Vergleich zu den Holotricha (BONHOMME, 1990).

Für *Eudiplodinium maggii* ist Cellulose die Futterquelle erster Präferenz (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992), *Ostracondinium dilobum* wächst in vitro auf getrocknetem Gras (COLEMAN, 1987), ebenso *Polyplastron multivesiculatum* in geringer Dichte (COLEMAN, 1979). *Ophryoscolex* spp. wächst in vitro auf Stärke und getrocknetem Gras, nicht aber ausschließlich auf diesem, während *Epidinium ecaudatum* bei Fehlen von Stärke überlebt (COLEMAN UND REYNOLDS, 1982). Letztgenanntes fermentiert Stärke, Glucose und Fructose, nutzt aber die ersten beiden zur AS-Synthese (BONHOMME, 1990) und besitzt Enzyme zur Hydrolyse von Cellulose und Cellobiose, jedoch geringer ausgeprägt als bei anderen Entodiniomorphen (BAILEY UND GAILLARD, 1965; WILLIAMS ET AL., 1984).

Die großen *Ophryoscoleciden* besitzen zudem Organellen aus Polysacchariden, mit Ausnahme der Genera *E.* und *Diplodinium*, wobei diese zwar Zucker als Energiequelle nutzen können, nicht aber zur Polysaccharidsynthese befähigt sind (COLEMAN, 1979).

Bislang besteht kein Beweis, dass Entodiniomorphen Pentosen oder Uronsäure als Energiequelle für das Wachstum nutzen können (OXFORD, 1958; COLEMAN ET AL., 1980).

*E. caudatum* ist in der Lage, langkettige Fettsäuren wie Öl-, Linolen-, und Palmitinsäure aufzunehmen und in Phospholipide umzubauen (BROAD UND DAWSON, 1975). Das Phospholipid Cholin ist essentiell für das Wachstum von *E. caudatum* (BROAD AND DAWSON, 1976). Etwa

## Kapitel 2

---

1,2 % des von *E. caudatum* aufgenommenen Glucosekohlenstoffs wird in Lipide eingebaut (COLEMAN, 1969). Studien von PRINS (1977) und LATHAM ET AL. (1972) berichten von der Hydrolyse von Olivenöltröpfchen durch *E.spp.*

### Holotricha

Von den löslichen Zuckern vermögen *Holotricha* ausschließlich die Monosaccharide Glucose, Fructose, Galactose sowie lösliche Oligo- und Polysaccharide dieser Monomere wie z.B. Raffinose, Inulin und Fructosane zu nutzen (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992). Die Bandbreite der metabolisierten Oligosaccharide ist genusabhängig, so sind Maltose, Cellobiose und Lactose für *Isotricha spp* nicht nutzbar (GUTIERREZ, 1955), obwohl  $\alpha$ -Glucosidasen und  $\beta$ -Glucosidasen zum Abbau vorhanden sind. Dagegen vermögen sie Stärkekörner aufzunehmen und zu verdauen, auch die Nutzung von Melibiose ist möglich (PRINS UND VAN HOVEN, 1977).

Die Geschwindigkeit der Kohlenhydratnutzung bei beiden Genera erfolgt nach der Präferenz Saccharose>Fructose>Glucose>Galactose (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992) und wird bei *Dasytricha ruminantium* von Natur und Konzentration des Substrates, der Umgebungstemperatur sowie dem pH-Wert beeinflusst (WILLIAMS UND HARFOOT, 1976). Die Glucoseaufnahme wird nicht reduziert durch das Vorhandensein von Speicherpolysacchariden in der Zelle, während Milchsäure eine merkliche Hemmung induziert (WILLIAMS UND MORRISON, 1982). Ebenfalls von Bedeutung ist die Gegenwart weiterer löslicher Zucker wie Glucose und Saccharose, die in einer vermehrten Aufnahme von Galactose durch *Dasytricha ruminantium* resultieren (WILLIAMS, 1979).

Etwa 30 % der vom Wirtstier aufgenommenen Zucker werden von *Holotricha* in ein verzweigtes Homoglucan, ähnlich dem Amylopektin überführt (COLEMAN, 1979). Das höchste Ausmaß erreicht die Speicherung 2-4 h nach der Fütterung, dann sind etwa 75-80 % der aufgenommenen Zucker als Reservepolymer gespeichert (OXFORD, 1951; WILLIAMS UND COLEMAN, 1992), welches, wenn lösliche Zuckervorräte erschöpft sind, benutzt wird, um flüchtige Fettsäuren zu bilden (WILLIAMS UND HARFOOT, 1976). Bei einer Schwelle von 20 mM Glucose im Medium wird der Abbau von Reserveamylopektin gehemmt (PRINS UND VAN HOVEN, 1977). Die Fermentation der gespeicherten Substrate erlaubt den *Holotricha* eine kontinuierliche Energiebereitstellung während des gesamten Tages, darüber hinaus wird eine Lactatakkumulation durch Bakterien und ein daraus resultierender pH-Wertabfall mit der Gefahr einer Acidose im Pansen vermieden, die Pansenfermentation stabilisiert (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992). Ist jedoch Lactat angereichert, kann dies zum Platzen der *Holotricha* führen.

## Kapitel 2

---

Ursache ist die nicht selektiv geregelte Kontrolle des Zuckereintritts in die Zelle mit nachfolgender Zelllysis (VAN HOVEN UND PRINS, 1977; WILLIAMS, 1979).

Isotrichide Protozoen können mit dem Pflanzenmaterial im Pansen assoziiert sein, die Fähigkeit zum Abbau von Cellulose und Hemicellulose ist jedoch begrenzt. So ist die hemicellulolytische Aktivität der Holotricha um das 5-10 fache gegenüber den Entodiniomorphen Ciliaten erniedrigt und sie sind nicht in der Lage, die aus dem Abbau resultierenden Pentosezucker zu fermentieren (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992).

Pectine können sowohl von Isotricha als auch von Dasytricha abgebaut werden zu Oligouroniden und Methanol, welche nunmehr nicht weiter von Holotricha genutzt werden können (WILLIAMS UND HARFOOT, 1976; ABOU AKKADA UND HOWARD, 1961). Dasselbe gilt für Hexuronsäuren, Polyuronide und Galacturonsäuren. Mannose, Gluco- und Galactosamine besitzen sogar toxische Wirkung (SUGDEN UND OXFORD, 1952).

Isotricha spp sind nur begrenzt zur Hydrolyse komplexer Lipide (GIRARD UND HAWKE, 1978) befähigt, vielmehr nehmen sie die von der lipolytischen Bakterienflora gebildeten Produkte auf (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992). Auch die Biohydrogenierung ungesättigter Fettsäuren ist noch nicht zweifelsfrei erwiesen. Dagegen erfolgt die de novo Synthese von Fettsäuren und Phospholipiden auf Basis von Acetat oder Monosacchariden (DEMEYER ET AL., 1978; HARMEYER UND HEKIMOGLU, 1968). Langkettige Fettsäuren aus dem Medium werden in zelluläre Lipide wie Phospholipide und Sterolester eingebaut (DEMEYER ET AL., 1978). Allerdings stellten sich in einer Studie von GIRARD UND HAWKE (1978) Linolensäurekonzentrationen von 0,014 mM als toxisch für isolierte Holotricha heraus.

### **N-Versorgung**

Der Wachstumsbedarf von Protozoen wird nach MORRISON UND MACKIE (1996) über AS und Peptide am besten gedeckt, ONODERA ET AL (1977) konnten keine Ammoniaknutzung durch Protozoen feststellen. Mit Ausnahme von *Ophryoscolex caudatus* vermag keine Spezies quantitativ relevante Mengen AS aus Stärke oder Glucose zu synthetisieren, deshalb müssen sie vorgeformt aufgenommen werden. Protozoen spielen eine essentielle Rolle beim Abbau unlöslicher Proteine, die metabolisiert werden durch protozoeneigene Proteasen und Peptidasen (COLEMAN, 1983; FORSBERG ET AL., 1984; IVAN ET AL., 1991). Bakterien sind dabei die wichtigste N-Quelle für Protozoen, obwohl freie AS und Pflanzenproteine ebenfalls wertvolle Quellen für einige Spezies darstellen (WILLIAMS UND COLEMAN, 1997). Alle Pansenciliaten verschlingen Bakterien, wie z.B. Streptokokken, Mikrokokken, grampos. Stäbchen, Corynebakterien, *Butyrivibrio* und gramneg. *Bacteroides* (WHITE, 1969) im Umfang von bis zu

## Kapitel 2

---

90 % des eubakteriellen Proteinturnovers im Pansen (WALLACE UND MCPHERSON, 1987), wodurch ein bis zu dreifacher Anstieg der Bakteriendichte nach einer Defaunierung möglich ist. Das Ausmaß bzw. die Geschwindigkeit des Verschlingens und Verdauens ist von den jeweiligen Bakterien- und Protozoenspezies und deren Anzahl, vom Ernährungsstatus sowie von den Umgebungsbedingungen abhängig (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992). Nach einer Untersuchung von COLEMAN UND SANDFORD (1979) können bis zu 21200 Bakterien von einer Protozoe pro h aufgenommen werden. Pro Tag vermag eine Population von  $10^6$  Protozoen pro ml im Pansen eines Schafes 2,4 bis 45 g Bakterien zu verdauen (BONHOMME, 1990).

*E. caudatum* und *E. simplex* nutzen Bakterien als Haupt-N-Quelle (BONHOMME-FLORENTIN, 1974; COLEMAN, 1980). Bakterielle Proteine werden in freie AS hydrolysiert und *E. longinucleatum*, *Epidinium ecaudatum*, *Ophryoscolex*, *Eudiplodinium maggii*, *Isotricha prostoma* und *Isotricha intestinalis* bauen die AS in ihr Protozoenprotein ein (COLEMAN, 1980). Die Geschwindigkeit des AS-Einbaus differiert; *Polyplastron multivesiculatum* und *Eudiplodinium maggii* nehmen AS schneller auf als *E. caudatum* und *Epidinium caudatum* (COLEMAN, 1967).

Von den bakteriellen AS werden Ala, Asp, Gly, Glu, Leu, Isoleu, Pro, Ser und Val direkt ins Protozoenprotein eingebaut (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992). Der Einbau von Leu und Ser erfolgt verstärkt in großen Ciliaten (AHUJA UND SARNAH, 1979). DAPA wird umgewandelt in Lys (ONODERA UND KANDATSU, 1974). Purin- und Pyrimidinbasen bakterieller NS werden in die NS von Entodiniomorphen eingebaut (COLEMAN, 1968), bei *Holotricha* liegen keine Informationen vor (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992).

Bei *E. caudatum*, *E. longinucleatum*, *Epidinium caudatum* (Rind), *Ophryoscolex caudatus* und *Polyplastron multivesiculatum* erlaubt die Aufnahmegeschwindigkeit an bakteriellem Protein und freien AS eine Zellteilung innerhalb von 24 h, wesentlich schneller wird dies erreicht durch das Verschlingen anderer Protozoen, meist *E. spp.*, durch *Polyplastron*, *Diplodinium*, *Elytroplastron*, *Enoploplastron*, *Metadinium* und *Ostracodinium* (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992). (siehe Tab. 4). Die Autoren gehen bei *E. caudatum* und *Ostracodinium dilobum* von einer gezielten Nutzung von Pflanzenprotein aus, die zusätzliche AS für die Zellteilung bereitstellt, auch übrige Entodiniomorphen nutzen etwas Pflanzenprotein.

Insgesamt werden nur etwa 50 % des verschlungenen Proteins genutzt, der Rest wird in den Pansen ausgeschieden in Form von Peptiden und Ammoniak, welche dann durch verbleibende Bakterien metabolisiert werden (COLEMAN, 1975). Vor allem die AS Glu, Asp, Arg, Citr und Orn dienen den ciliaten Protozoen zur Ammoniakproduktion, nicht aber Pro, Asp, Glu, Lys und His (ONODERA ET AL., 1983). Die Nutzung von Harnstoff durch Ciliaten wird kontrovers bewertet,

## Kapitel 2

BONHOMME-FLORENTIN (1975 ) bejahen Abbau und Nutzung von Harnstoff, während ONODERA ET AL. (1977) keine Ureolyse feststellen konnten.

*E. caudatum*, *E. simplex* , *E. bursa*, *E. longinucleatum* ,*Polyplastron multivesiculatum*, *Eudiplodinium maggii* besitzen begrenzte Fähigkeit AS aus Stärke nach dem Abbau zu Glucose zu synthetisieren (COLEMAN UND SANDFORD, 1980; WILLIAMS UND COLEMAN, 1992), etwas höher ausgeprägt ist diese Fähigkeit bei *Epidinium caudatum* (8 % der verschlungenen Stärke). *E.* und

Tabelle 4: Bedeutung von AS für die Protozoenproteinsynthese (modifiziert nach Williams und Coleman, 1992)

	Her- Kunft	Bakt. Protein- einbau in cytopl.. Protozoenprotein (ng/Protozoe/h)	AS-Einbau in cytopl.Proto- zoenprotein (ng/Protozoe/h)	Protozoen- proteinaufnahme (ng/Protozoe/h)	Min. Genera- tionszeit aus Bakterien und freien AS (h)	Min. Generations- zeit aus anderem Protozoenprotein
<i>E.bursa</i>	K	0,158	0,063	5,1	77	3,3
<i>E.caudatum</i>	P	0,031	0,011		98	
<i>E.caudatum</i>	K	0,135	0,0017		17	
<i>E.longinucleatum</i>	K	0,132	0,008		28	
<i>Diplopl.affine</i>	K	0,21	0,015		37	
<i>Epid.caudatum</i> (Schaf)	K	0,105	0,05		91	
<i>Epid.caudatum</i> (Rind)	K	0,504	0,2		20	
<i>Eudiplod.maggii</i>	K	0,41	0,36		31	
<i>Ophryos.caudatus</i>	K	1,34	0,184		18	
<i>Ophryos.caudatus</i>	P	0,19	0,092		99	
<i>Ostracod.dilobum</i>	K	0,02	0,016		255	
<i>Polypl. multivesiculat.</i>	K	0,72	3,6	5,7	16	12,1

K = Kultur, P = Pansen

*Diplodinium* können durch Decarboxylierung Lys aus  $\alpha$ -DAPA synthetisieren (ONODERA UND KANDATSU, 1974). Ciliaten sind ebenfalls in der Lage, Lys aus den Mucopeptiden der bakteriellen Zellwände zu synthetisieren, darüber hinaus ist eine limitierte Synthese von Arg und Citr möglich (ONODERA ET AL., 1983).

*Polyplastron multivesiculatum* hydrolysiert Oligosaccharide und der Kohlenstoff aus Stärke und Glucose wird in Protozoenproteine eingebaut; dies sind etwa 10 % des Proteins, welches die Ciliate benötigt, um sich ein Mal pro Tag zu teilen (ABOU AKKADA ET AL., 1963).

*Holotricha* verschlingen Chloroplasten, Bakterien und andere Partikel (ABOU AKKADA UND HOWARD, 1962; COLEMAN, 1975; FORSBERG ET AL., 1984) zusätzlich zum Abbau löslicher Proteine und bauen deren Proteine intrazellulär ab zu Peptiden und AS, teils für die Protozoenproteinsynthese, teils werden sie entweder direkt in den Pansensaft ausgeschieden oder zu Ammoniak abgebaut und ins Medium sezerniert (BIRD ET AL., 1990). Die Menge freigesetzten Ammoniaks aus der Aufnahme von AS durch Protozoen wird nach COLEMAN (1967) sowie NAGA UND EL SHAZLY (1968) als sehr gering eingestuft, da das meiste des produzierten Ammoniaks von Amidgruppen stammt (ABOU AKKADA UND HOWARD, 1962). Deshalb liegt der

## Kapitel 2

Grund für die höhere Ammoniakkonzentration im Pansen faunierter Tiere nicht im herabgesetzten Ammoniakabbau durch Bakterien, sondern hauptsächlich in der höheren Produktion freier AS aus Rationsprotein, die dann durch Bakterien deaminiert werden (JOUANY ET AL., 1992).

Exogen supplementierte AS werden bei *Isotricha* spp normalerweise direkt in Protozoenprotein eingebaut (WALLIS UND COLEMAN, 1967), obwohl HARMEYER (1971) einen teilweisen Abbau von Arg und Cys bemerkte. In derselben Studie stellten sich AS-Konzentrationen über 52 mM als toxisch für isolierte *Isotricha* spp. heraus. Sowohl *Isotricha* spp. als auch *Dasytricha ruminantium* sind in der Lage, Oligopeptide aufzunehmen, wobei die Aufnahmegeschwindigkeit mit zunehmender Kettenlänge sinkt (NEWBOLD ET AL., 1989; WALLACE ET AL., 1990).

Holotricha sind zur de novo Synthese von AS befähigt, hauptsächlich Ala, His, Thre, Glu und Asp, aber auch Lys (ONODERA UND KANDATSU, 1974).

Prinzipielle Fermentationsprodukte von isolierten Protozoen sind Acetat und Butyrat, bei *Holotricha* Laktat (WILLIAMS UND COLEMAN, 1992; BONHOMME, 1990) verbunden mit einer H<sub>2</sub>-Produktion von unter 5 nmol/Zelle/d in vitro (USHIDA UND JOUANY, 1996). Einen Überblick über die Endprodukte der Fermentation aus verschiedenen Substraten gibt Tabelle 5.:

Tabelle 5: Fermentierte Substrate und Fermentationsprodukte von Protozoen  
nach YOKOYAMA UND JOHNSON, 1988

Protozoenspezies	Fermentierte Substrate	Fermentationsprodukte
<i>Isotricha intestinalis</i>	Stärke, Saccharose, Glucose, Pektin	C <sub>2</sub> , C <sub>4</sub> , Laktat, H, Lipide, C <sub>3</sub>
<i>prostoma</i>	Stärke, Saccharose, Glucose, Pektin	C <sub>2</sub> , C <sub>4</sub> , Laktat, H, Lipide, C <sub>3</sub> , CO <sub>2</sub>
<i>Dasytricha ruminantium</i>	Stärke, Maltose, Cellobiose, Glucose	C <sub>2</sub> , C <sub>4</sub> , Laktat, H, CO <sub>2</sub>
<i>Entodinium bursa</i>	Stärke, Hemicellulose	---
<i>caudatum</i>	Stärke, Cellobiose, Glucose, Maltose, Saccharose	C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> , Laktat, H, Lipide, CO <sub>2</sub>
<i>simplex</i>	Stärke	Lipide
<i>Polyplastron</i>	Cellulose, Glucose, Stärke, Saccharose	C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> , Laktat, H, CO <sub>2</sub>
<i>Diplodinium</i>	Cellulose, Hemicellulose, Stärke	---
<i>Diploplastron</i>	Cellulose, Hemicellulose, Stärke	---
<i>Eudiplodinium</i>	Cellulose, Hemicellulose, Stärke	C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> , C <sub>4</sub> , Laktat, H, Formiat, CO <sub>2</sub>
<i>Ostracodinium</i>	Cellulose, Hemicellulose, Stärke	---
<i>Eremoplastron</i>	Cellulose, Hemicellulose, Stärke	---
<i>Epidinium ecaudatum</i>	Cellulose, Hemicellulose, Stärke, Saccharose,	C <sub>2</sub> , C <sub>4</sub> , H, Laktat, Formiat, Lipide
<i>caudatum</i>	Maltose	
<i>Ophryoscolex caudatus</i>	Cellulose, Hemicellulose, Stärke	C <sub>2</sub> , C <sub>4</sub> , H, C <sub>3</sub> ,

C<sub>2</sub> = Acetat, C<sub>3</sub> = Propionat, C<sub>4</sub> = Butyrat, -- in Originalquelle nicht angegeben

## Kapitel 2

---

### 2.1.1.3 Pilze

Frei lebende, bewegliche Zoosporen sowie unbewegliche Sporangien assoziiert mit Pflanzenpartikeln besiedeln den Pansen und können bis zu 8 % der mikrobiellen Biomasse betragen (ORPIN, 1981, 1983/84). Die bislang isolierten 13 Spezies zählen zur Ordnung Neocallimasticales innerhalb der Klasse der Chytridiomyceten (LI ET AL., 1993). Beim Rind wird die Dichte der Pilzpopulation in Pansen und Retikulum auf  $7,6 \times 10^8$  (MPN) geschätzt mit zunehmender Tendenz bei steigendem Rohfasergehalt der Ration (DAVIES ET AL., 1983).

Anaerobe Pilze spielen eine wichtige Rolle beim pflanzlichen Zellwandabbau durch das synergistische Ineinandergreifen ihrer Polysacchariddepolymerasen und Glykosidhydrolasen (FONTY UND GOUET, 1994; FONTY UND JOBLIN 1991). Die Effizienz der pilzlichen Cellulasen variiert zwischen den Spezies und Stämmen und übersteigt teilweise die der hauptcellulolytischen Bakterienspezies *Fibrobacter succinogenes* und *Ruminobacter flavefaciens* (BERNALIER ET AL., 1991, 1992). Der Genus *Caecomyces* besitzt generell geringere cellulolytische Aktivität als die Genera *Neocallimastix frontalis* und *Piromyces communis* (FONTY UND GOUET, 1994).

#### 2.1.1.3.1 Nährstoffversorgung der Pilze

##### Energieversorgung

Da Pilze keine Mitochondrien besitzen (YARLETT ET AL., 1986), erfolgt die Energiegewinnung über anaerobe Fermentation von CHO, indem Hexosen zu Formiat, Acetat, Laktat, Succinat, Ethanol, CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> abgebaut werden (BAUCHOP UND MOUNTFORT, 1981; LOWE ET AL., 1987). Eine Ausnahme bildet *N. patriciarum*, der nur Spuren von Ethanol und Formiat produziert (ORPIN UND MUNN, 1986).

Als Substrate dienen den meisten Genera Glucose, Fructose und Xylose, *N. patriciarum* vermag zusätzlich Galactose zu nutzen (ORPIN UND LETCHER, 1979; LI UND HEATH, 1993; PHILIPS UND GORDON, 1988). Pektin- und Polygalacturonate sowie Arabinose werden generell nicht fermentiert (ORPIN UND LETCHER, 1979; PHILIPS UND GORDON, 1988), wobei jedoch FONTY UND BERNALIER, unveröff., zitiert in FONTY UND GOUET (1994) ein leichtes Wachstum polyzentrischer Pilze auf Pektin als alleiniger Energiequelle beobachteten. Cellulose, Cellobiose, Laktose und Maltose werden von der Majorität der Pilze genutzt, jedoch wird die Verdauung von Cellulose bei Vorhandensein von Glucose gehemmt, in vivo werden deshalb nach MOUNTFORT (1987) lösliche CHO bevorzugt. Des Weiteren sind einige Genera befähigt, Raffinose zu fermentieren, während Lignin zwar durch depolymerisierende Enzyme von den Zellwänden gelöst werden kann, aber durch Pilze weder abgebaut noch genutzt wird (OP DEN CAMP ET AL.,

## Kapitel 2

---

1994). Eine Übersicht des Nutzungsprofils der einzelnen Pilzgenera über die verschiedenen CHO-Quellen ist in Tabelle 6 dargestellt.

### **N-Versorgung**

Ammoniak kann als alleinige N-Quelle für anaerobe Pilze dienen, aber eine Mischung aus AS wirkt sich stimulatorisch auf das Pilzwachstum aus (LOWE ET AL., 1985; ORPIN UND GREENWOOD, 1986; THEODOROU ET AL., 1994). MORRISON UND MACKIE (1996) vermuten, dass der N-Bedarf der Pilze am besten durch Peptide und AS gedeckt wird, wozu vermutlich vorgeformte AS oder Peptide verwendet werden (SCHWAB ET AL., 2005), die aus der pilzlichen Proteolyse stammen (WALLACE UND JOBLIN, 1985), eine Ureaseaktivität konnte nicht nachgewiesen werden (SAKURADA ET AL., 1994).

## Kapitel 2

Tabelle 6: Nutzung verschiedener CHO-Quellen durch *Neocallimastix* spp, *Piromyces* spp. und *Caecomyces* spp nach TRINCIET AL., 1994

	N. frontalis		N. patriciarum		N. hurleyensis		P. comm.										C. comm.			
	MCH3	PN1	F1	LM1	LM2	LM4	PN2	S5	LM7	NF1	SM5	SM1	SM2	SM3	LM8	FG10	NM1	NM2	CN1	
Monosaccharide																				
Arabinose	-	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fructose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fucose	-	ND	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Galactose	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	ND	ND	+	ND	-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mannose	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	ND	ND	-	ND	-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Sorbose	ND	ND	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylitol	ND	-	ND	-	-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+	+
Di/Trisaccharide																				
Cellulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gentiobiose	±	ND	ND	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+	+
Lactose	+	ND	ND	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	±	(+)	±	+	+	+	+	±	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Saccharose	-	+	+	+	+	+	+	±	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Polysaccharide																				
Cellulose	ND	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	ND	-	-	-	-
Xylan	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	+	+
Stärke	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	-	-	-	-
Glykogen	ND	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND
Inulin	ND	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	-
Pektin	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	-
Polygalakturonate	ND	ND	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	-

+ Substrat wird genutzt, - Substrat wird nicht genutzt, (±) Substrat wird schlecht genutzt, (±) Substrat wird nicht einheitlich genutzt, ND, nicht bestimmt

### 2.1.1.4 Archaea

Der Anteil der methanogenen Archaea an der Gesamtmikrobenpopulation im Pansen beträgt 0,5 bis 3 % (CZERKAWSKI, 1986; LIN ET AL., 1997). Als charakteristisches Merkmal verfügen sie über sechs Coenzyme, die an der Reduktion von CO<sub>2</sub> zu CH<sub>4</sub> beteiligt sind: Coenzym M, Faktor F430, 7-Mercaptoheptanoyl-Threoninphosphat, involviert in die terminale Reaktion der Methanogenese, sowie Faktor F420, Methanopterin und Methanofuran (DI MARCO ET AL., 1990).

Auf Basis der 16 S rRNA Sequenz werden die Methanbildner im archaischen Reich der Euryarchaeota in die Ordnungen Methanobacteriales, Methanococcales, Methanomicrobiales, Methanosarcinales und Methanopyrales untergliedert, die zusammen über 60 verschiedene Spezies beinhalten (SOWERS, 2000; VETRIANI UND REYSENBACH 2000). Nur wenige davon, aufgeführt in Tabelle 7, konnten bislang aus dem Pansen von Wiederkäuern isoliert werden (MC ALLISTER ET AL., 1996), ihre Konzentration schwankt zwischen 10<sup>3</sup> und 10<sup>9</sup> pro ml (PAYNTER UND HUNGATE, 1968; PATTERSON UND HESPELL; 1979, LOVLEY ET AL., 1984; VICINI ET AL., 1987). Die Methanbildner lassen sich unterteilen in freilebende, auf der Zelloberfläche angeheftete sowie endosymbiontische Spezies (FINLAY ET AL., 1994; TOKURA ET AL., 1997).

Tabelle 7: Methanbildner im Pansen

	Methanobacterium formicicum	Methanobrevibacter ruminantium	Methanomicrobium mobile	Methanosarcina barkeri	Methanosarcina mazei *
Spezies Form	Rind schmale Stäbchen mit stumpfen Enden	Rind, Schaf kurze Stäbchen	Rind Stäbchen mit abgerundeten Enden und einem polaren Flagellum	Rind, Schaf unregelmäßige Kokken	unregelmäßige Kokken
Größe	0,4-0,8µm x 2-15µm	0,7 x 0,8µm-1,8µm	0,7µm x 1,5-2µm	1,5-2 µm Ø	1-3 µm Ø
Motilität	Unbeweglich	Unbeweglich	Beweglich	Unbeweglich	Unbeweglich
Gram- färbung	Gramvariabel	Grampositiv	Gramnegativ	Grampositiv	Gramnegativ bis Gramvariabel
Zellwand	Pseudomurein	Pseudomurein	Protein	Heteropoly- saccharide mit Protein	Hetero- polysaccharide
Quelle	OPPERMANN ET AL., 1957 BALCH ET AL., 1979 KÖNIG UND STETTER, 1989 KANDLER UND KÖNIG, 1978	SMITH UND HUNGATE, 1958 BRYANT, 1965 KANDLER UND KÖNIG, 1978	PAYNTER UND HUNGATE, 1968 KANDLER UND HIPPE, 1977	KANDLER UND HIPPE, 1977 PATTERSON UND HESPELL, 1979 ROWE ET AL., 1979	KANDLER UND HIPPE, 1977 MAH 1980 KÖNIG UND STETTER, 1989

\*Methanosarcina mazei wird bei MC ALLISTER ET AL. (1996) zu den Pansenmethanbildnern gezählt, in der Originalliteratur von MAH (1980) wurde Methanosarcina mazei aus häusl. Abwässern und tier. Ausscheidungen isoliert.

## Kapitel 2

Als vorherrschenden Methanbildner im Pansen bezeichnen ältere Literaturquellen *Methanobrevibacter ruminantium* bzw. *Methanobrevibacter* spp (SMITH UND HUNGATE, 1958; STEWART UND BRYANT, 1988). Bei einer neueren SSU rRNA Analyse dominierten Methanobacteriaceae bei Kühen und Ziegen, während beim Schaf Methanomicrobiaceae überwogen (LIN ET AL., 1997). Diesen Untersuchungen lagen jedoch weder eine einheitliche Rationsgestaltung noch standardisierte Fütterungsbedingungen der Tiere zugrunde.

In Tabelle 8 ist eine Übersicht über die Konzentration von Methanbildnern bei unterschiedlichen Fütterungsbedingungen und Spezies dargestellt, woraus sich beschränkt auf die Spezies keine einheitlich dominierende methanogene Ordnung feststellen lässt. Der Einsatz moderner phylogenetischer Analysemethoden zeigt, dass bislang noch nicht alle methanogenen Archaea im Pansen identifiziert sind. So berichten LIN ET AL. (1997) erstmals vom Vorkommen der Ordnung Methanococcales im Pansen, die in späteren Untersuchungen von MACHMÜLLER ET AL. (2003A, B) beim Schaf sogar den höchsten Anteil innerhalb der methanogenen Archaea erreichte.

Tabelle 8: Konzentration methanogener Archaea in Abhängigkeit von Fütterung und Spezies

Spezies	n	Fütterung	Gesamtkonzentration methanogener Archaea	Anteil der Ordnungen				Quelle
				Mbac	Mcoc	Mmic	Msar	
				an gesamten Methanbildnern				
Kuh	4	50 % Heu 50 % KF	1,6 % der SSU rRNA	75,4 %	6,1 %	18,5 %	0 %	LIN ET AL., 1997
	1	41 % Heu 59 % KF	3,1 x 10 <sup>8</sup> /ml	39,9 %	24,4 %	13,9 %	21,8 %	SOLIVA ET AL., 2004
	1	60 % Heu 40 % KF	3,4 x 10 <sup>8</sup> /ml	37 %	44 %	16 %	3 %	SOLIVA ET AL., 2003
Bulle	5	30 % Heu 70 % KF	2,1 % der SSU rRNA	61,8 %	11,8 %	16,2 %	10,2 %	LIN ET AL., 1997
	1	100 % Heu	2,4 % der SSU rRNA	51,0 %	21,1 %	25,9 %	2,0 %	LIN ET AL., 1997
Schaf	4	20 % Heu 80 % KF	0,6 % der SSU rRNA	20,4 %	22,5 %	57,1 %	0 %	LIN ET AL., 1997
	6	41 % Heu 59 % KF	10,6 x 10 <sup>8</sup> /ml	28,7 %	31,8 %	17,1 %	22,4 %	MACHMÜLLER ET AL., 2003 (A)
	6	68 % Heu 32 % KF	11,0 x 10 <sup>8</sup> /ml	27,9 %	39,2 %	17,2 %	15,5 %	MACHMÜLLER ET AL., 2003 (A)
	3	53 % Maissil. 5 % Heu 42 % KF	2,3 x 10 <sup>8</sup> /ml	8,5 %	86,4 %	5,0 %	0,1 %	MACHMÜLLER ET AL., 2003 (B)
	3	53 % Maissil. 5 % Heu 42 % KF	2,2 x 10 <sup>8</sup> /ml	8,9 %	85,8 %	5,2 %	0 %	MACHMÜLLER ET AL., 2003 (B)

### 2.1.1.4.1 Nährstoffversorgung der Archaea

Die Methanbildner sind in ihrer Versorgung mit essentiellen Nährstoffen sehr stark von anderen Mikroben des Pansens abhängig, da diese ihnen die benötigten Substrate liefern. Generell ist bei der Nährstoffversorgung zwischen den Wachstumsfaktoren für die Methanbildner und den essentiellen Substraten für die Methanogenese zu unterscheiden (siehe Tabelle 9).

#### Energie- und Kohlenstoffversorgung

Das Spektrum an energie- und kohlenstoffliefernden Substraten für methanogene Archaea ist eng begrenzt verglichen mit dem der übrigen Pansenmikroben. Lediglich H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, Formiat, Acetat, Methanol, Mono-, Di-, Trimethylamin und CO<sub>2</sub> dienen als Energie- und Kohlenstoffquellen (WHITMAN, 1985; WOLIN UND MILLER, 1987). Einfache Zucker können scheinbar nicht aufgenommen werden (JONES ET AL., 1987) und kein Methanbildner ist in der Lage, die zur Verfügung stehenden Energiequellen in ihrer Gesamtheit zu nutzen (JARRELL UND KALMOKOFF, 1988). Hauptsubstrate der Pansenmethanbildner stellen H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> sowie Formiat dar (CARROLL UND HUNGATE 1955; HUNGATE, 1967). Nach HUNGATE ET AL. (1970) stammen rund 80 % des gebildeten Methans aus H<sub>2</sub> und etwa 18 % aus Formiat. Die Fähigkeit, Formiat zu nutzen, basiert auf der Umwandlung von Formiat in H<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> mit anschließender Reduktion von CO<sub>2</sub> zu CH<sub>4</sub> (WOLIN, ET AL., 1997). *Methanosarcina barkeri* weist die größte Variabilität an Substraten auf, er kann neben H<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> auch Methanol, Methylamin und Acetat zur Methansynthese verwenden (BALCH ET AL., 1979). Die Fermentation aus Acetat verläuft sehr langsam (STADTMAN UND BARKER, 1951) und nur maximal 5 % des im Pansen gebildeten Methans haben ihren Ursprung in Acetat (OPPERMANN ET AL., 1961). Ebenfalls als sehr gering einzustufen sind die aus Methylamin synthetisierten Methanmengen (PATTERSON UND HESPELL, 1979).

#### N-Versorgung

Von den Methanbildnern außerhalb des Pansens ist die Verwendung von Ammoniak, die Deaminierung von Aminosäuren, die N-Fixierung, die Harnstoffhydrolyse, die Metabolisierung von Methylaminen und der Abbau von Purinen und Pyrimidinen bekannt, allerdings vermag keine Spezies den gesamten N-Pool auszuschöpfen (DE MOLL, 1993; DE MOLL UND TSAI, 1986; BHATNAGAR ET AL., 1984; WHITMAN ET AL., 1987). Über die N-Quellen der Methanbildner im Pansen sind nur wenige, teils konträre Aussagen in der Literatur zu finden.

Alle Methanbildner nutzen Ammoniak als N-Quelle (WHITMAN, 1985; BRYANT ET AL., 1971; JONES ET AL., 1987), jedoch kann eine begrenzte Menge organischer N-Quellen von bestimmten Methanbildnern aufgenommen werden.

## Kapitel 2

Generell steht bei *Methanobrevibacter ruminantium* die Nutzung von Ammoniak im Vordergrund. Nach BRYANT ET AL. (1971) liefert 1 µM Ammonium pro ml Kulturmedium ausreichend N für ein Wachstum in optimaler Dichte, ungeachtet dessen, ob das Kulturmedium gleichzeitig eine Mischung aus Aminosäuren oder Peptiden beinhaltet, da die Aminosäuren das Ammoniak als Hauptquelle des Zellstickstoffs nicht ersetzen können (BRYANT ET AL., 1971). Jedoch sind auch Aminosäuren von essentieller Bedeutung, wobei von sechs getesteten Aminosäuren Thre, His und Methionin die höchste Stimulanz aufwiesen. Darüber hinaus benötigt *Methanobrevibacter ruminantium* 2-Methylbutyrat als Wachstumsfaktor, da ihm die Fähigkeit fehlt, Ile effizient aus dem Medium zu assimilieren bzw. sein Kohlenstoffskelett aus anderen C-Quellen zu synthetisieren (BRYANT ET AL., 1971). 2-Methylbutyrat ist ein Vorläufer des Iles, welches über den reduktiven Carboxylationsweg biosynthetisiert werden kann (ROBINSON UND ALLISON, 1969). In geringen Mengen (< 0,7 g N/Tag) kann *Methanobrevibacter ruminantium* gasförmigen N fixieren (LI PUN UND SATTER, 1975).

Tabelle 9: Substrate und Wachstumsbedingungen der Pansenmethanbildner

	<i>Methanobacterium formicicum</i>	<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>	<i>Methanomicrobium mobile</i>	<i>Methanosarcina barkeri</i>	<i>Methanosarcina mazei</i>
Temp.	37-45	37-40	30-45	25-50	25-45
Optimum	30-45	37-39	40	45	40-42
pH	6,6-7,8	6,5-7,7	5,9-7,7	6,5-7,5	5,8-8,0
Optimum	7-7,5	6,3-6,8	6,1-6,9	7,0	6,8-7,2
Substrate für Methanogenese	Formiat H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub>	Formiat H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub>	Formiat H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , Acetat, Methanol Trimethylamin, Methylamin	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , Acetat, Methanol Trimethylamin, Methylamin
Wachstumsfaktoren	Ammoniak Acetat, Cystein Nickel, Kobalt, Eisen Molybdän	Ammoniak Aminosäurenmix, Acetat, B-Vitamine, Coenzym M, 2-Methylbutyrat, Cystein, Sulfide Nickel, Kobalt, Eisen	Ammoniak Tryptophan Na-Acetat, Pyridoxin, Thiamin, Biotin, Vit.B12, P-Aminobenzoesäure, Isobutyrat, Isovalerat, 2-Methylbutyrat, hitze stabiler Faktor aus Pansensaft Nickel, Kobalt, Eisen	Ammoniak Hefeextrakt Coenzym M Nickel, Kobalt, Eisen	Ammoniak Hefeextrakt Nickel, Kobalt, Eisen
Quellen	BRYANT ET AL., 1971 KÖNIG UND STETTER, 1989 ARCHER UND HARRIS, 1986 WHITMAN, 1985	BRYANT, 1965, BRYANT ET AL., 1971 BALCH ET AL., 1979 TAYLOR ET AL., 1974 WHITMAN, 1985	PAYNTER UND HUNGATE 1968 TANNER UND WOLFE, 1988 KÖNIG UND STETTER, 1989 WHITMAN, 1985	PATTERSON UND HESPELL, 1979 HUTTEN ET AL., 1981 JARELL UND KALMOKOFF, 1988 WHITMAN, 1985	JARELL UND KALMOKOFF, 1988, MAH, 1980 ARCHER UND HARRIS, 1986 WHITMAN, 1985

Nach KÖNIG UND STETTER (1989) stellt Ammoniak die alleinige N-Quelle für *Methanobacterium formicicum* dar, MAGINGO UND STUMM (1991) führen zusätzlich eine molekulare N-Fixierung an. Für *Methanosarcina barkeri* und *mazei* dient Ammoniak als N-Quelle (WEIMER UND ZEIKUS, 1978; KÖNIG UND STETTER, 1989). Darüber hinaus ist *Methanosarcina barkeri* befähigt, in geringen

## Kapitel 2

---

Mengen Aminosäuren, wie beispielsweise Ile, zu assimilieren, jedoch werden assimilierte Aminosäuren nach JARRELL UND KALMOKOFF (1988) nicht als N-Quelle genutzt. So dienen z.B. Methionin oder Cystein als Schwefeldonatoren (WELLINGER UND WUHRMANN, 1977; SCHERER UND SAHM, 1981). Bei *Methanosarcina barkeri* Stamm 227 wiesen MURRAY UND ZINDLER (1984), das Potential zur N-Fixierung nach, jedoch resultierte das Wachstum auf N<sub>2</sub> gegenüber Ammoniak in reduzierten Erträgen. *Methanomicrobium mobile* benötigt Tryptophan mit einem Optimum von 0,24 µM zum Wachstum (TANNER UND WOLFE, 1988).

### 2.1.2 Mikrobielle Interaktionen mit Beteiligung der Methanbildner

Im Ökosystem des Pansens mit seiner Flora und Fauna führen mikrobielle Interaktionen zwischen Bakterien, Protozoen und Pilzen einerseits und methanogenen Archaea auf der anderen Seite zu erheblichen Verschiebungen im Muster der Fermentationsprodukte, die wiederum Substrate, insbesondere H<sub>2</sub>-Lieferanten, für Methanbildner darstellen können.

#### Wechselwirkungen zwischen Methanbildnern und Bakterien

Die Höhe des H<sub>2</sub>-Partialdrucks ist in besonderem Maße richtungsweisend für die Fermentationsabläufe wichtiger Pansenbakterien.

In Monokultur produziert *Ruminococcus albus* Ethanol, Acetat, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, wobei H<sub>2</sub> akkumuliert. Das NADH wird reoxidiert durch Enzyme für die Synthese von Ethanol aus Acetyl-SCoA. In Cokultur mit Methanbildnern verringert sich unter Einfluss eines niedrigen H<sub>2</sub>-Partialdrucks drastisch die Ethanolbildung, während die Produktion von Acetat, ATP und H<sub>2</sub> zunimmt. Hintergrund ist die Oxidation von Pyruvat zu Acetyl-SCoA, H<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> (MILLER UND WOLIN, 1973), zusätzlicher H<sub>2</sub> wird während der Glykolyse aus der Oxidation von NADH zu NAD bereitgestellt, die Reoxidation von NADH ist gehemmt (WOLIN, 1974).

Ein weiterer Cellulolyt, *Ruminococcus flavefaciens*, reoxidiert NADH in Monokultur durch Reduktion von Oxalacetat, um Succinat als Hauptfermentationsprodukt zu gewinnen (MILLER, 1995). Dagegen wird in Cokultur mit *Methanobacterium ruminantium* die Succinatproduktion stark eingeschränkt, da der Elektronenfluß aus der Glykolyse anstelle von Succinat in Acetat umgeleitet wird (LATHAM UND WOLIN, 1977).

*Acetovibrio cellulolyticus* produziert in Monokultur Acetat, das akkumuliert wird bis zu Konzentrationen von 15-18 mM, welche zunächst das Wachstum von *A. cellulolyticus* und daraufhin den weiteren Celluloseabbau hemmen. In Cokultur nutzt *Methanosarcina barkeri* das gebildete Acetat sowie den H<sub>2</sub> als Substrate für die Methanogenese, im Gegenzug kann ein weiterer Celluloseabbau stattfinden (KHAN, 1980).

*Selenomonas ruminantium* fermentiert Laktat zu Propionat, Acetat und CO<sub>2</sub>, dabei fallen in Monokultur nur Spuren von H<sub>2</sub> an. Im Verbund mit einem Methanbildner vermindert sich der Anteil von Propionat signifikant zugunsten von Acetat (CHEN UND WOLIN, 1977). Als Erklärung dient in diesem Falle ebenfalls eine Abkehr von der Produktion von Elektronensenkeprodukten hin zu Methan über eine vermehrte H<sub>2</sub>-Bereitstellung, unterstützt durch eine Zunahme der Acetatsynthese.

### Wechselwirkungen zwischen Methanbildnern und Protozoen

Protozoen nehmen eine indirekte Rolle bei der Methanogenese ein. Von Ciliaten produzierter  $H_2$  fördert die methanogene Aktivität symbiontischer Archaea (KRUMHOLZ ET AL., 1983) und stellt nach ORSKOV UND RYLE (1990) eine der Haupt- $H_2$ -Quellen für die Methanbildner dar. Im Rahmen des interspezifischen Wasserstofftransfers nutzen sowohl ekto-symbiontisch auf der Zelloberfläche angeheftete als auch endosymbiontische Methanbildner den vom Ciliaten-Wirt gebildeten Wasserstoff zur Methansynthese. Im Gegenzug wird die Fermentation der Protozoen durch Aufrechterhaltung eines niedrigen Wasserstoffpartialdrucks begünstigt, außerdem verändert sich das Fermentationsmuster der von Ciliaten gebildeten Fettsäuren beispielsweise hin zu reduzierter Laktat- und Butyratproduktion bei holotrichen Protozoen (FENCHEL UND FINLAY, 1992).

Auf ungefähr 10-20% schätzen STUMM ET AL. (1982) den Anteil der auf der Zelloberfläche von Ciliaten in Form von Haufen oder Ketten anhaftenden Methanbildner. Bis zu 20 Methanbildner können auf diese Weise mit einer Ciliate ekto-symbiontisch verbunden sein (FINLAY ET AL., 1994), wobei in Untersuchungen von VOGELS ET AL. (1980) beim Rind die beteiligten Ciliaten aus 11 Spezies der Familie der Ophryoscoleciden stammten. Diese Form der Symbiose ist bei höherem H-Partialdruck und kurz nach der Fütterung nicht besonders stark ausgeprägt, dann erhalten die Methanbildner den  $H_2$  nicht von Protozoen, während bei niedrigem H-Partialdruck die eukaryotischen Zellen als dominierende Lieferanten bezeichnet werden (BONHOMME, 1990). Bei holotrichen Protozoen konnten STUMM UND ZWART (1986) trotz  $H_2$ -Produktion keine ekto-symbiontische Vergesellschaftung mit Methanbildnern nachweisen während KRUMHOLZ ET AL. (1983) eine lockere Verbindung von Methanbildnern mit den Cilienreihen von holotrichen Protozoen beobachteten.

Von FINLAY ET AL. (1994) wurden beim Schaf im Mittel zwischen 96 und 520 endosymbiontische Methanbildner pro Ciliate beobachtet. Diese befinden sich in membrangebundenen Vakuolen im Cytoplasma der Ciliatenspezies *E. spp* und *Dasytricha ruminantium*, die zusammen über 90 % der Ciliatenpopulation betragen. Nicht alle *E. spp* wiesen jedoch endosymbiontische Methanbildner auf. LLOYD ET AL (1996) berichten, ebenfalls beim Schaf, von einer geringeren Zahl von Endosymbionten bei Isotrichiden im Vergleich zu Entodiniomorphen. Weniger als 3 % der *Dasytricha* waren endosymbiontisch besiedelt und bei *Polyplastron multivesiculatum* fehlten die Archaea gänzlich. TOKURA ET AL. (1997) führen diese Beobachtung auf eine schwierigere Besiedelbarkeit der großen Ciliaten wie z.B. *Polyplastron* und *Isotricha* aufgrund ihres größeren Zellvolumens, ihrer Oberfläche und ihrer metabolischen Aktivitäten zurück.

Differenzierte physiologische Eigenschaften, wie z.B. eine unterschiedlich ausgeprägte Mobilität oder Halophilität zwischen den Methanbildnern (TOKURA ET AL., 1997; STEWART ET AL., 1997), bilden einen Ansatzpunkt für die Einstufung in ektosymbiontische, endosymbiontische und freilebende Methanproduzenten. SHARP ET AL. (1998) wiesen Mitglieder der Familie der Methanobacteriaceae als assoziiert und freilebend nach, während die Methanomicrobiales, ausgestattet mit hoher Motilität (siehe Tab. 7), ausschließlich freilebend auftraten. In einer Studie von MACHMÜLLER ET AL. (2003A) hemmte der Einsatz von Kokosnussöl die metabolische Aktivität von Methanobacteriales und Methanococcales nur in Kombination mit einer Defaunierung, Angehörige dieser Ordnungen könnten folglich vorzugsweise endosymbiontisch mit Ciliaten vergesellschaftet sein. Demnach ist eine Eliminierung der Protozoen durch Defaunierung oftmals mit einer reduzierten Methanogenese verbunden (USHIDA ET AL., 1997; JOUANY 1991). Nach Untersuchungen von FINLAY ET AL. (1994) und NEWBOLD ET AL. (1995) sind mit Ciliaten assoziierte Methanbildner für 37 % bzw. 9-25 % der Methanogenese des Pansens verantwortlich. Diese Anteile lassen auf keine dominierende Rolle der assoziierten Methanbildner an der Gesamtmethansynthese schließen, zusätzlich sinkt bei Abwesenheit der Protozoen der Anteil der assoziierten zugunsten der freilebenden Archaea (SHARP ET AL., 1998).

### **Wechselwirkungen zwischen Methanbildnern und Pilzen**

In Cokultur mit Methanbildnern produzieren cellulolytische Pilze weniger Laktat und Ethanol, während Acetat, CO<sub>2</sub> und CH<sub>4</sub> zunehmen (BAUCHOP UND MOUNTFORT, 1981). An die Pelliculae der Pilze geheftete Methanbildner können unmittelbar auf die von Pilzen in Hydrogenosomen produzierten Substrate H<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> zugreifen (YARLETT ET AL., 1986), da diese nahe der Oberfläche der Plasmamembran lokalisiert sind (WEBB UND THEODOROU, 1988).

Außerdem ist die Cellulosefermentationsrate sowie der Xylanabbau der Pilze in Cokultur stark verbessert (BAUCHOP UND MOUNTFORT, 1981; FONTY ET AL., 1988; MARVIN-SIKKEMA ET AL., 1990). Alle Cokulturfermentationen können 4 Mol ATP pro Mol fermentierter Hexose liefern und setzen so zusätzliche Energie für das Wachstum der Methanbildner frei (MILLER, 1995).

Die Vielfalt der Wechselwirkungen führt letztlich zu dem Ergebnis, dass der H<sub>2</sub>-Partialdruck durch die Anwesenheit von methanogenen Archaea sinkt, was eine den jeweiligen Mikroben entsprechende spezifische, physiologische Fermentation mit Beteiligung der Methanbildner erst erlaubt.

### **2.1.3 Ausgangspunkt für die eigenen Untersuchungen**

Zum N-Bedarf der Bakterien und Protozoen liegen in der Literatur detaillierte Angaben vor, bei Pilzen nur wenige und für den N-Bedarf der Methanbildner sind lediglich vereinzelte Quellen mit größtenteils unscharfen Aussagen vorhanden. Oftmals wird auch nicht zwischen Methanbildnern des Pansens und Methanbildnern anderer Habitate unterschieden.

Deshalb besteht die Möglichkeit, bei einem erhöhten N-Bedarf der Methanbildner gegenüber den übrigen Pansenmikroorganismen die Methanproduktion durch eine Reduktion der N-Zufuhr zu senken, ohne die übrige Fermentationsleistung im Pansen zu beeinträchtigen. Um den N-Bedarf der methanogenen Archaea zu konkretisieren, werden im Folgenden Kombinationen verschiedener Kohlenhydrate mit unterschiedlichen N-Quellen und N-Mengen *in vitro* überprüft.

### 2.2 Material und Methoden

#### 2.2.1 Spendertiere

Für die in vitro Untersuchungen standen zwei mit permanenter Pansenfistel versehene Kühe der Rasse Deutsche Holstein zur Verfügung. Die Tiere wurden in Einzelboxen auf Stroheinstreu gehalten und zweimal täglich um 7.30 Uhr und 16.00 Uhr mit einer Ration bestehend aus 60 % Heu und 40 % Kraftfutter gefüttert. Zum Wasser hatten die Kühe jederzeit freien Zugang.

#### 2.2.2 Inkubationsmethode

Die Fütterung der Spendertiere, die Technik der Pansensaftentnahme, die Durchführung der Inkubation sowie die Messung der gebildeten Gasmenge basierten auf dem von STEINGAB UND MENKE (1986) beschriebenen Hohenheimer Futterwerttest (HFT), bei dem eine definierte Menge Substrat in 100 ml Glaskolbenprobern mit gepuffertem Pansensaft bei 39° C über 24 Stunden inkubiert und die aus der Fermentation resultierende Gasmenge ermittelt wird.

Im vorliegenden Versuch wurden folgende Modifikationen vorgenommen:

##### 1. Modifikation des N-Niveaus:

Die N-Versorgung der Mikroben erfolgt beim HFT über die Pufferlösung des Mediums mit einer Konzentration von 3,37 mg/30 ml je Kolbenprober. Um ein möglichst breites N-Spektrum zu erhalten wurde die N-Gabe auf vier verschiedenen Niveaus vorgenommen (Tabelle 10).

Tabelle 10: N-Supplementierungsstufen

N-Zulagestufen	I	II	III	IV
		mg N/30 ml		
	0	1,69	3,37	6,74

Pro N-Zulagestufe wurden jeweils drei Blindwerte sowie drei Parallelen je Substrat und Inkubationstag angesetzt und an mindestens drei Tagen wiederholt, um eine ausreichende statistische Absicherung der Ergebnisse gewährleisten zu können. Darüber hinaus erfolgte zusätzlich eine dreistufige Variation der eingesetzten Pansensaftmengen in den Kolbenprobern.

Tabelle 11: Modifizierung des Pufferlösung/Pansensaftverhältnisses pro Inkubationseinheit

	I	II	III
Pansensaft in ml	10	5	2,5
Pufferlösung in ml	20	25	27,5
Verhältnis Pufferlösung/Pansensaft	2:1	5:1	11:1

Diese Maßnahme sollte einerseits das N-Spektrum erweitern und zugleich den Einfluss des Pansensaft-N auf den Gesamt-N im Inokulum verringern, da der N-Gehalt im Pansensaft trotz standardisierter Fütterung der Spendertiere nicht konstant ist (FINGER, 1999). Um den N-Gehalt des Pansensaftes berücksichtigen zu können, wurde der Pansensaft von jedem Inkubationstag auf seinen Gehalt an XP bzw. N nach VDLUFA (1976) untersucht.

### 2. Modifikation der N-Quelle

Auch zwischen der Herkunft des N wurde differenziert. Im ursprünglichen HFT dient Ammoniumhydrogencarbonat ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) dem Substrat als alleinige zugesetzte N-Quelle (NPN). Bei der vorliegenden in-vitro Testreihe wurde als weitere N-Quelle das Reinprotein Casein (SIGMA-ALDRICH) eingesetzt, welches nach Analyse des XP- bzw. N-Gehaltes nach VDLUFA (1976) der N-Menge der Zulagestufe entsprechend in die Kolbenprober eingewogen wurde. Im Gegenzug wurde für die Inkubationen mit dem N-Träger Casein grundsätzlich ein N-freier Puffer aus  $\text{NaHCO}_3$  benutzt, während der Puffer bei der NPN-Variante je nach N-Niveau aus unterschiedlichen Mischungsanteilen von  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  und  $\text{NaHCO}_3$  bestand.

### **2.2.3 Substrate**

Bei der Inkubation kamen die Kohlenhydrate Cellulose und Maisstärke zum Einsatz. Die Einwaage der Substrate wurde auf 100 mg (OS) Maisstärke und 150 mg (OS) Cellulose begrenzt, um ein Überschreiten der Skalierung der Kolbenprober während der 24-stündigen Inkubationszeit zu vermeiden. Zudem müsste bei einer höheren Einwaage der Kolbenprober während der Inkubation geöffnet werden, um einen Teil des Gases abzulassen. Durch diesen Vorgang würde ein Teil der Gasmenge entweichen und über etwaige Vermischungen mit der Umgebungsluft würde die Gaszusammensetzung im Kolbenprober verändert werden.

### **2.2.4 Bestimmung des verfügbaren N**

Bei den verwendeten N-Quellen wurde von einer vollständigen Verfügbarkeit sowohl des NPN als auch des N des Reinproteins nach 24 Stunden Inkubation ausgegangen. Um den durch mikrobielle Umsetzungen für die Pansenmikroben in seiner Gesamtheit zur Verfügung stehenden N in Form von Ammoniak-N zu quantifizieren, wurde der Begriff des verfügbaren N gewählt, der als  $\text{NH}_3$ -N des Blindwerts der N-Zulagestufe nach 24 stündiger Inkubation und der jeweiligen N-Zulage definiert wurde. Hierfür wurden die Blindwerte nach erfolgter Inkubation einer Ammoniakdestillation unterzogen. Da die N-Gehalte der verwendeten Substrate mit

0,08 % N für Maisstärke bzw. 0,02 % N für Cellulose vernachlässigt werden können, wurden sie in der Berechnung des verfügbaren N nicht berücksichtigt.

### **2.2.5 Methanmessung**

Unmittelbar nach Inkubationsende wurde die Flüssigkeit der Kolbenprober in Polyethylenflaschen überführt, wobei der Kapillaranatz des Kolbenprobers senkrecht nach unten wies, um einen Austritt bzw. eine Vermengung des Gases mit der Außenluft zu verhindern. Das Entfernen der Flüssigkeit war notwendig, da die sich die Fermentationsgase Kohlendioxid und Methan unterschiedlich stark in Flüssigkeiten zu lösen vermögen und dadurch die Konzentrationsverhältnisse in den zu untersuchenden Gasmischen verschoben werden (FINGER, 1995).

Die Methankonzentration der Proben wurde anhand eines Infrarotdurchflussgasanalysators (Advanced Gasmitter PRONOVA) mit integrierter barometrischer Druckkompensation und einem Messbereich von 0 bis 30 % CH<sub>4</sub> ermittelt. Die verbliebene Restfeuchtigkeit im Silikonschlauch des Kolbenprobers wurde vor Messbeginn entfernt, am Gasanalysator wurde ein Feuchtigkeitsabsorber eingebaut, um das Messgerät vor Verschmutzungen zu schützen.

Zur Messung wurde der Silikonschlauch des Kolbenprobers mit dem Schlauchaufsatz des Messgeräts verbunden, die Schlauchklemme des Kolbenprobers geöffnet und kontinuierlich Gas mittels Heraufdrücken des Stempels in das Gerät eingeleitet, bis der Gassensor nach etwa ein bis zwei Minuten einen stabilen Messwert anzeigte.

Für die Eichung des Messgeräts stand ein hochreines Gasmisch (MESSER GRIESHEIM) zur Verfügung. Die Zusammensetzung des Eichgases entsprach den in vorherigen Untersuchungen ermittelten Gaskonzentrationen im Probengas. Demnach enthielt das Eichgas 17,9 % Methan, 1 % Wasserstoff, 2,6 % Stickstoff und 78,5 % Kohlendioxid. Vor und nach jedem Messdurchgang wurde der Durchflussgasanalysator mit dem Eichgas kalibriert.

### **2.2.6 Statistische Auswertung**

Die Varianzanalyse für die Gas- und Methanproduktion nach 24-stündiger Inkubation wurde mit der Methode mixed procedure des Statistical Analysis System (SAS) in der Version 8.12 für wiederholte Messungen (repeated measures) durchgeführt. Das Modell beinhaltete den Einfluss der Faktoren N-Quelle, CHO-Quelle und N-Zulagestufe, sowie zwei- und dreifache Wechselwirkungen der genannten Einzelfaktoren untereinander. Die Mittelwerte (LS Means) und Standardfehler (SEM) der Hauptfaktoren wurden berechnet, der Vergleich der

Mittelwertdifferenzen der Gas- und Methanproduktion bei verschiedenen N-Zulagestufen erfolgte über den Tukey-Kramertest mit einem Signifikanzniveau von  $P < 0,05$ .

### **2.2.6.1 Berechnung des minimalen N-Bedarfs für Gas- und CH<sub>4</sub>-Produktion**

Sowohl Gas- als auch Methanproduktion stehen in einer Beziehung zur Menge an verfügbarem N und erreichen ein Plateau. Der Übergang zu diesem Plateau (breakpoint  $x_0$ ) kennzeichnet die minimal benötigte N-Menge für das Erreichen einer optimalen Fermentation bzw. Methanogenese. Für die Berechnung des minimalen N-Bedarfs wurde die Beziehung zwischen Gasproduktion bzw. Methanproduktion und verfügbarer N-Menge an eine segmentierte quadratische Funktion unter Verwendung eines nichtlinearen Modells (proc nlin) mit der Iterationsmethode doesn't do derivatives (DUD) von SAS an die Gleichung  $y = a+bx+cx^2$  für  $x < x_0$  und  $y = d$  für  $x > x_0$  angepasst. Der asymptotische Standardfehler und die Grenzen der asymptotischen Konfidenzintervalle (95 %) für die Schätzung der Parameter a, c und  $x_0$  wurden berechnet.

## 2.3 Ergebnisse

Sowohl die CHO- als auch die N-Quelle und die N-Dosierungsstufe übten einen signifikanten Effekt auf Gas- und Methanbildung in vitro aus (siehe Tab. 12). Signifikante Wechselwirkungen konnten ausschließlich zwischen den Faktoren CHO-Quelle und N-Niveau beobachtet werden.

Tab 12: Varianzanalyse der Gas- und Methanbildung nach 24-stündiger Inkubation

	CHO-Quelle	N-Quelle	N-Stufe	CHO-Quelle *N-Quelle	CHO-Quelle *N-Stufe	N-Quelle *N-Stufe	CHO-Quelle *N-Quelle *N-Stufe
Gasbildung (ml)	**	**	**	n.s.	**	n.s.	n.s.
Methanbildung (ml)	**	**	**	n.s.	**	n.s.	n.s.

### 2.3.1 Einfluss von CHO- und N-Quelle auf Gas- und Methanbildung

Die Mittelwerte der Gas- (Gb) und Methanbildung (Mb) bezogen auf 100 mg CHO TM in Abhängigkeit von CHO- und N-Quelle sind in Tabelle 13 bzw. 14 dargestellt. Die CHO-Quelle Cellulose wies im Mittel mit 29,1 ml eine signifikant niedrigere Gb auf als Stärke mit 40,2 ml. Bei der Mb zeichnete sich ebenfalls ein signifikant niedriger Mittelwert für Cellulose mit 3,7 ml gegenüber Stärke mit 5,4 ml CH<sub>4</sub> ab. Bezogen auf das Gasvolumen lag der Methananteil bei beiden CHO-Quellen zwischen 10 und 18 %.

Die N-Quelle NPN ergab eine signifikant geringere mittlere Gb von 33,9 ml im Vergleich zu Casein mit 35,4 ml. Dasselbe Ergebnis zeigte sich bei der Mb mit 4,4 ml versus 4,7 ml.

Tabelle 13: Einfluss der CHO-Quelle auf Gas- und CH<sub>4</sub>-Produktion in vitro

	Gb (ml)		Mb (ml)	
	MW	SEM	MW	SEM
Cellulose gesamt	29,1 <sup>a</sup>	0,46	3,7 <sup>a</sup>	0,10
Stärke gesamt	40,2 <sup>b</sup>	0,52	5,4 <sup>b</sup>	0,11

Tabelle 14: Einfluss der N-Quelle auf Gas- und CH<sub>4</sub>-Produktion in vitro

	Gb (ml)		Mb (ml)	
	MW	SEM	MW	SEM
NPN gesamt	33,9 <sup>a</sup>	0,42	4,4 <sup>a</sup>	0,08
Casein gesamt	35,4 <sup>b</sup>	0,56	4,7 <sup>b</sup>	0,11

<sup>a,b</sup> unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede für P<0,05

Eine Übersicht über die Mittelwerte und Standardfehler von Gb und Mb für die einzelnen CHO-N-Kombinationen ist in Tabelle 15 gegeben.

## Kapitel 2

Die Stärke-Kombinationen mit im Mittel 39,7 ml und 40,7 ml Gb verhielten sich signifikant höher gegenüber den Cellulose-Kombinationen mit 28,1 ml und 30,0 ml. Innerhalb der CHO-Quellen Stärke und Cellulose führen die verschiedenen N-Quellen Casein und NPN mit (39,7/40,7) und (28,1/30,0) zu keinen signifikanten Unterschieden beim Parameter Gb. Dagegen sind die Mittelwerte der CHO-N-Kombinationen für die Mb einerseits hinsichtlich der CHO-Quelle mit 3,4 und 4,0 für Cellulose gegenüber 5,3 und 5,5 für Stärke signifikant verschieden. Gleichzeitig bestehen auch zwischen den N-Quellen innerhalb der einzelnen CHO-Quellen signifikante Unterschiede.

Tabelle 15: Mittlere Gb- und Methanbildung der einzelnen CHO-N-Kombinationen in ml

	Gb (ml)		Mb (ml)	
	MW	SEM	MW	SEM
Cellulose-NPN	28,1 <sup>a</sup>	0,59	3,4 <sup>a</sup>	0,12
Cellulose-Casein	30,0 <sup>a</sup>	0,71	4,0 <sup>b</sup>	0,15
Stärke-NPN	39,7 <sup>b</sup>	0,59	5,3 <sup>c</sup>	0,12
Stärke-Casein	40,7 <sup>b</sup>	0,86	5,5 <sup>d</sup>	0,18

<sup>a,b,c,d</sup> unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede für  $P < 0,05$

### 2.3.2 Einfluss des N-Niveaus auf Gas- und Methanbildung

Der Verlauf von Gb und Mb, dargestellt in Abb. 2 bis 5, zeigt die Abhängigkeit der beiden Größen von der Menge an verfügbarem N. Mit zunehmender N-Zufuhr stiegen bei allen CHO-N-Kombinationen Gb und Mb an, bis sie schließlich ein Plateau erreichten, welches die maximale Produktionsleistung kennzeichnet. Der Übergang zu diesem Plateau entspricht dem minimalen N-Bedarf für eine optimale Fermentation ( $X_{0 \text{ Gb}}$ ) bzw. Methanproduktion ( $X_{0 \text{ Mb}}$ ), welcher über die segmentierte quadratische Funktion  $y = a+bx+cx^2$  für  $x < x_0$  unter der Prämisse  $b = -2cx_0$  im breakpoint  $X_0$  und  $y=d$  für  $x > x_0$  ermittelt wurde (siehe Tab. 16 und 17).

Tabelle 16: Parameter der Modellgleichungen der segmentierten quadratischen Funktion zur Berechnung des minimalen N-Bedarfs für eine optimale Gasbildung ( $x_0$ )

	a		c		$X_{0 \text{ Gb}}$	
	ml				mg verf. N/100 mg CHO TM	
Cellulose-NPN	-7,13	3,11 <sup>1</sup>	-1,54	0,31 <sup>1</sup>	5,17	0,39 <sup>1</sup>
Cellulose-Casein	10,15	2,09	-1,63	0,19	5,32	0,23
Stärke-NPN	9,93	2,67	-3,06	0,63	3,22	0,22
Stärke-Casein	2,04	4,80	-4,42	1,03	3,01	0,20

<sup>1</sup> gibt den asymptotischen Standardfehler der jeweiligen Parameterschätzung an

# Kapitel 2

Abbildung 2: Gb- und CH<sub>4</sub>-Produktion Cellulose-NPN

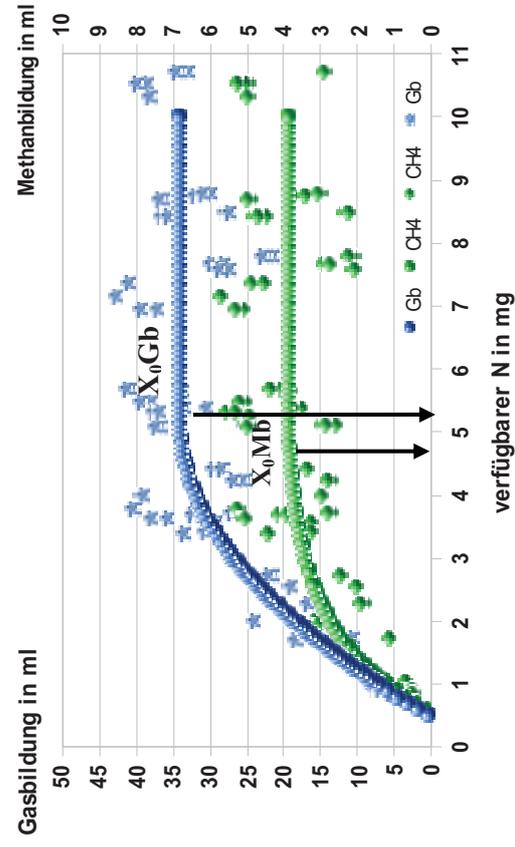


Abbildung 3: Gb- und CH<sub>4</sub>-Produktion Cellulose-Casein

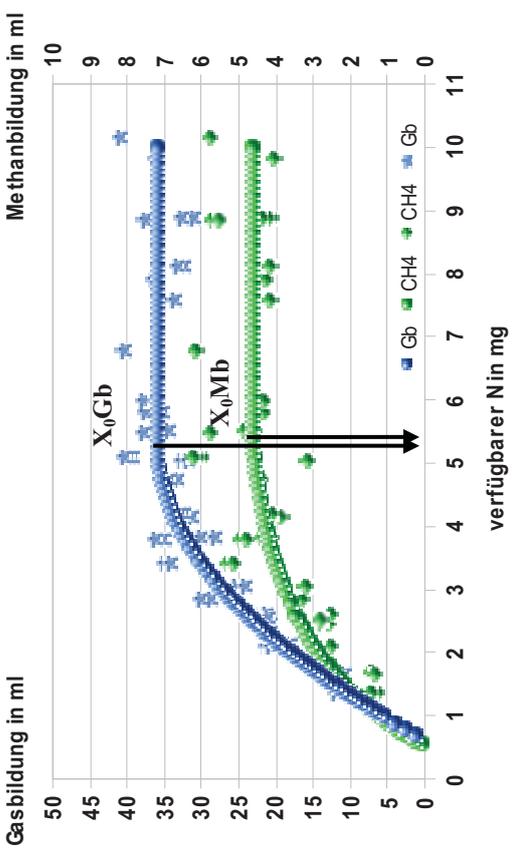


Abbildung 4: Gb- und CH<sub>4</sub>-Produktion Stärke-NPN

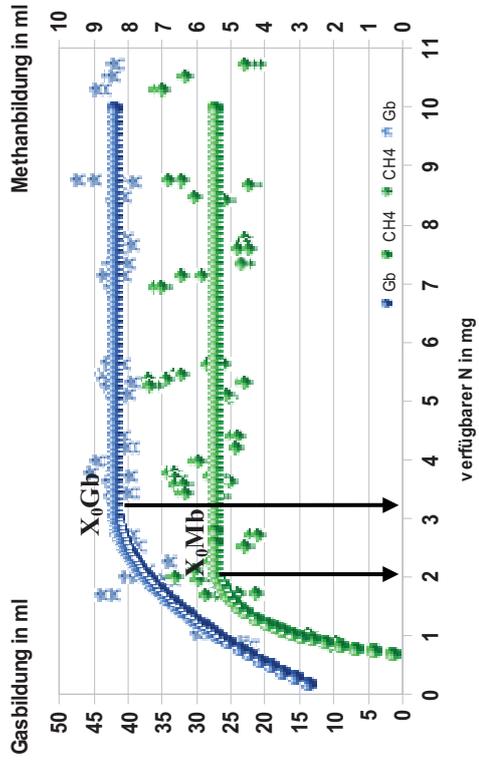
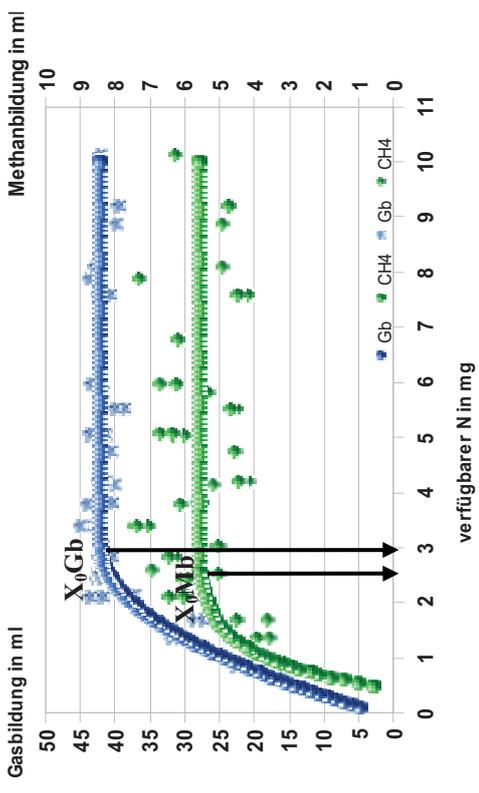


Abbildung 5: Gb- und CH<sub>4</sub>-Produktion Stärke-Casein



## Kapitel 2

Der minimale N-Bedarf für eine optimale Fermentation bewegte sich innerhalb der CHO-Quelle auf einem einheitlichen Niveau von 3,01 bis 3,22 mg verf. N/100 mg CHO TM bei Stärke und 5,17 bis 5,46 mg verf. N/100mg CHO TM bei Cellulose.

Der minimale N-Bedarf für die methanogene Flora differierte ebenfalls zwischen den CHO-Quellen mit einem um 2,2 bis 3,2 mg höheren Bedarf an verfügbarem N bei Cellulose gegenüber der CHO-Quelle Stärke mit 2,10 und 2,60 mg verf. N/100 mg CHO TM. Die Kombinationen Cellulose-NPN, Stärke-NPN und Stärke-Casein weisen einen geringeren minimalen N-Bedarf für die Methanogenese auf als für die Gasbildung. Bei der Kombination Cellulose-Casein liegt der minimale N-Bedarf für Gas- und Methanbildung mit 5,32 bzw. 5,34 mg/100 mg CHO TM nahezu gleichauf.

Tabelle 17: Parameter der Modellgleichungen der segmentierten quadratischen Funktion zur Berechnung des minimalen N-Bedarfs für die optimale Methanogenese ( $x_0$ )

	a		c		$X_{0 Mb}$	
	ml				mg verf.N/100mg CHO TM	
Cellulose-NPN	-0,97	0,68 <sup>1</sup>	-0,21	0,08 <sup>1</sup>	4,82	0,65 <sup>1</sup>
Cellulose-Casein	-1,33	0,54	-0,21	0,05	5,34	0,45
Stärke-NPN	-5,34	2,47	-2,49	1,20	2,10	0,28
Stärke-Casein	-0,94	2,70	-0,97	0,76	2,60	0,54

<sup>1</sup> gibt den asymptotischen Standardfehler der jeweiligen Parameterschätzung an

### 2.4 Diskussion

Bei den *in vitro* Inkubationen ergab sich bei Verwendung von Cellulose als CHO-Quelle eine signifikant niedrigere mittlere Gb von 29,1 ml/100 mg CHO TM im Vergleich zu Stärke mit 40,2 ml. Dieser Sachverhalt beruht auf einem unvollständigen Abbau der Cellulose nach 24 h, da diese eine langsamere Abbaurate aufweist (STEINGAB, 1983). Nach 48 h ist die Gasbildung zwischen Cellulose und Stärke nach STEINGAB (1983) vergleichbar.

Zwischen der Gb *in vitro* und der Verdaulichkeit eines Futtermittels besteht eine hohe Korrelation (MENKE UND STEINGAB, 1987), die Gb kann somit als Maß für die Verdaulichkeit der beiden CHO-Quellen herangezogen werden. Bestätigt wird eine höhere Verdaulichkeit von Stärke gegenüber Cellulose von verschiedenen Autoren wie BELASCO (1956), RAO UND THOMSEN (1984) sowie THOMSEN, 1985.

Die mittlere Gasbildung erreichte signifikant höhere Werte für die N-Quelle Casein mit 35,4 ml gegenüber NPN mit 33,9 ml. Innerhalb der einzelnen CHO-N Kombinationen fielen die Unterschiede zwischen Casein (30,0 ml vs. 40,7 ml) und NPN (28,1 ml vs. 39,7 ml) nur tendenziell aus. Ähnliche Ergebnisse erzielten HUQUE UND THOMSEN (1984) *in vitro* mit einer verbesserten Cellulose- und Stärkeverdaulichkeit bei Casein als N-Quelle mit 58,1 % bzw. 95,5 % verglichen mit Harnstoff (1,3 % vs. 47,7 %) und diskutierten vor allem aufgrund der schlechten Harnstoffnutzung einen Bedarf an Protein oder Polypeptiden für das optimale Wachstum von cellulolytischen Bakterien. Den positiven Einfluss von AS, Peptiden und Protein auf die Celluloseverdauung bestätigte eine *in vitro* Untersuchung von CARRO UND MILLER (1999). Ebenfalls stark verbessert zeigte sich die ADF-Verdaulichkeit bei Protein (21,3 %), Peptiden (25,3 %) und AS (24,4 %) gegenüber Harnstoff mit 15,2 % in Dauerkultur bei GRISWOLD ET AL. (1996). Peptide als N-Quelle führten auch bei einer *in vitro* Studie von CRUZ SOTO ET AL. (1994) zu einem gesteigerten Cellulosabbau *in vitro*.

Jedoch finden sich in der Literatur ebenfalls Quellen ohne fördernde Effekte von AS- oder Peptid-Zusätzen auf die Substratverdaulichkeit, so konstatierten FUJIMAKI ET AL. (1989) keine signifikanten Unterschiede in der ADF-Verdaulichkeit von Reisstroh nach 72-stündiger Inkubation in Nylon bags bei Austausch von Harnstoff (31,6 %) durch verschiedene essentielle (32,4 %) und nichtessentielle AS-Gemische (30,8 %) in der Spendertierration. Auch bei THOMSEN (1985) verhielt sich die Stärkeverdaulichkeit *in vitro* unbeeinträchtigt von der N-Quelle Harnstoff versus AS-Gemisch.

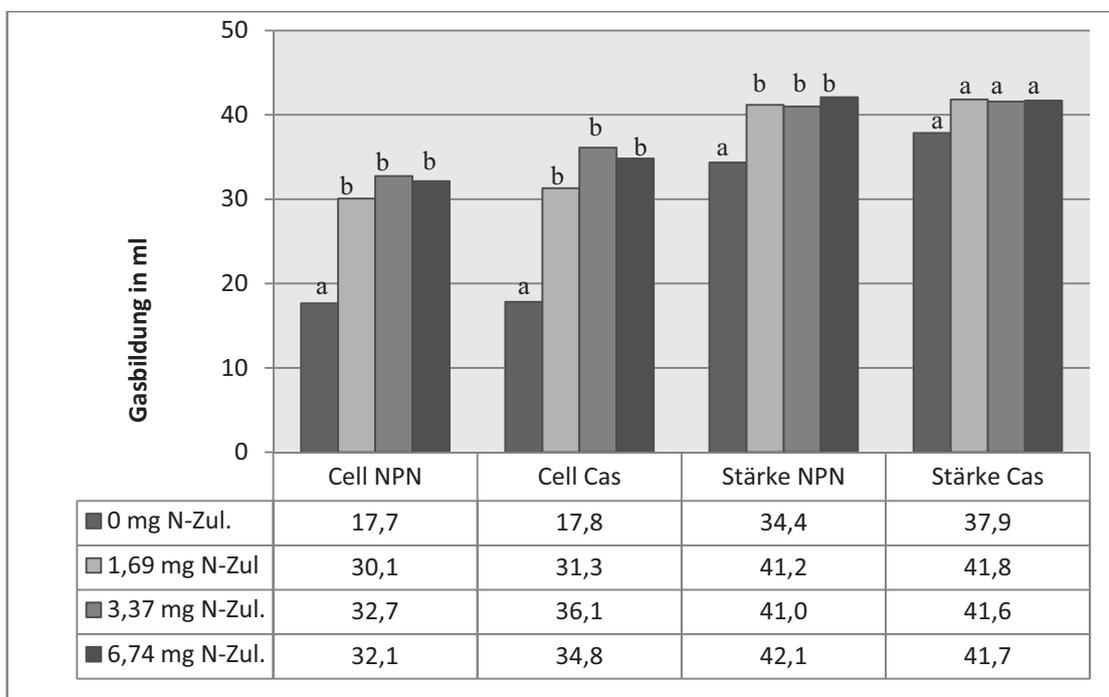
Da in der vorliegenden Untersuchung innerhalb der CHO Stärke und Cellulose keine signifikanten Unterschiede durch eine Variation der N-Quelle auftraten, scheint die N-Ver-

## Kapitel 2

sorgung der Mikroorganismen in Form von NPN oder Casein adäquat gedeckt zu sein, wobei keine Rückschlüsse auf etwaige Präferenzen einer N-Quelle gezogen werden können, da ein N-Gemisch aus Casein und NPN im vorliegenden Versuch nicht geprüft wurde. Nach HINO UND RUSSELL (1987) bauen primär Bakterien Casein ab, den Protozoen kommt nur eine untergeordnete Bedeutung zu, ebenso sind Protozoen nicht befähigt, Ammoniak zu nutzen (ONODERA ET AL., 1977), so dass für die weiteren Ergebnisse in erster Linie Effekte auf die bakterielle Population im Pansen diskutiert werden sollen.

Um die N-Versorgung der Mikroben genauer differenzieren zu können, wurde neben der Variation der N-Quelle, zusätzlich deren N-Menge stufenweise von 0 auf 1,69 bzw. 3,37 oder 6,74 mg pro Inkubationseinheit erhöht. Die N-Zulagestufen, umgerechnet auf den XP-Gehalt einer Ration mit 0 und 10,5, sowie 21 und 42 % XP in der TS (der N-Gehalt des Pansensafts unberücksichtigt) spiegeln sämtliche in der Praxis vorkommende Supplementationstypen von Mangel bis zur Überversorgung der Wiederkäuer hinsichtlich ihrer N bzw. XP-Gehalte wider. Die mittlere Gasbildung der jeweiligen Zulagestufen ist aus Abbildung 1 ersichtlich.

Abbildung 6: Gasbildung in Abhängigkeit von der N-Zulagestufe innerhalb der einzelnen CHO-N-Behandlungskombinationen



Setzt man die Gasbildung der N-Dosierungsstufe 0 in Beziehung zur mittleren Gb der Cellulose-N Kombinationen, erreichte die Gb bei Cellulose-NPN und Cellulose-Casein lediglich 63 bzw.

59 % ihres Mittelwertes, während die Kombinationen Stärke-NPN und Stärke-Casein auf dem Ausgangsniveau 87 bzw. 93 % ihrer mittleren Gb-Werte aufwiesen, das heißt dass der N-Bedarf bereits über die N-haltigen Verbindungen aus dem Pansensaft weitgehend für die amylolytische Flora gedeckt wird. Eine Erhöhung der N-Zulage auf 1,69 mg N/30 ml Kolbenprober steigerte die Gasbildung signifikant bei beiden Cellulosekombinationen und auch bei Stärke-NPN, nicht jedoch bei Stärke-Casein. Eine weitere Erhöhung der N-Zulage auf 3,37 mg N/ml Inkubationsgefäß erbrachte tendenziell noch bei den Cellulosevarianten verbesserte Gasbildungswerte, nicht hingegen bei den Stärkekombinationen. Diese Ergebnisse lassen auf eine geringere Abhängigkeit von Stärke gegenüber Cellulose hinsichtlich der N-Zulagestufe schließen bzw. legen nahe, dass die Aktivität der Cellulolyten unter einem N-Niveau von 1,69 mg beeinträchtigt ist.

Auch HUQUE UND THOMSEN (1984) untersuchten den Einfluss steigender N-Konzentrationen in Verbindung mit verschiedenen N-Quellen auf die Verdaulichkeit von Cellulose und Stärke. Sowohl bei Cellulose als auch bei Stärke schnitten Sojabohne (58,8 % und 95,6 % Verdaulichkeit OM) und Casein mit 58,1 und 95,5 % als beste N-Quellen in der Verdaulichkeit der CHO ab. Bei Stärke erbrachten auch Polypeptide und AS-Gemische eine gute Verdaulichkeit zwischen 80 und 90 %. Harnstoff erreichte knapp 50 %. Bei Cellulose erreichten Polypeptide knapp 30 %, AS Mix 11 %, bei Harnstoff fast keine Nutzung mit 1,3 %, wobei sich alle diese Werte auf die Höchst-N-Zulage von 2,15 % beziehen. Geringere Zulagen zogen mit wenigen Ausnahmen im unteren Bereich von 0,2 bis 0,42 % N eine geringere Verdaulichkeit nach sich. Die Autoren fanden eine lineare Regression zwischen N-Zulage und Verdaulichkeit für die jeweiligen N- und CHO-Quellen. Kritisch ist anzumerken, dass der N-Zulagekorridor bereits bei 2,15 % N endet, womit noch nicht der durchschnittliche N- bzw. XP-Gehalt von etwa 17 % XP einer Wiederkäuerration erreicht ist. Außerdem handelt es sich bei der Bezugsgröße N-Zulage nicht um den für die Mikroorganismen verfügbaren N, da endogene Quellen nicht berücksichtigt werden und dies vor allem vor dem Hintergrund nicht konstanter Pansensaft-N-Gehalte bei in vitro Inkubationen trotz standardisierter Spendertierfütterung zu beachten ist (FINGER, 1999).

Deshalb wurde in der vorliegenden Studie neben verschiedenen N-Zulagestufen die gebildete Gasmenge in Beziehung zum verfügbaren N gesetzt, welcher als  $\text{NH}_3\text{-N}$  des Blindwerts nach 24 h Inkubation zuzüglich des N aus der N-Zulage definiert ist. Unter Verwendung einer segmentierten quadratischen Funktion wurde der minimale N-Bedarf der Mikroben für eine optimale Gasbildung und damit für eine optimale Fermentationsleistung ermittelt. Dieser minimale verfügbare N-Bedarf stimmt bei den Kombinationen Stärke-Casein mit 30 und Stärke-NPN mit 32 g N/kg fermentierter OM sehr gut mit der von SINCLAIR ET AL. (1991) angegebenen

## Kapitel 2

---

N-Menge von 32g N/kg im Pansen fermentierter CHO bzw. 25g N/kg fermentierter OM (CZERKAWSKI, 1986) für eine optimale mikrobielle Syntheseleistung überein.

Dagegen fällt der minimale N-Bedarf für die Kombinationen Cellulose-NPN mit 52 und für die Kombination Cellulose-Casein mit 53 g N/kg fermentierter CHO weit höher aus. In diesem Zusammenhang darf nicht vergessen werden, dass die Ammoniaknutzung durch die Pansenbakterien auch von dem Vorhandensein weiterer Nährstoffe begrenzt wird:

1. Die mikrobielle Proteinsynthese und damit auch die Nutzung von Ammoniak wird primär durch die für diesen Prozess benötigte Energie in Form von ATP, hauptsächlich aus CHO stammend, für Wachstum und Erhaltung limitiert (STERN UND HOOVER, 1979; HAGEMEISTER UND KAUFMANN, 1974). Auch deren Bereitstellungsgeschwindigkeit für die Mikroben beeinflusst die Synthese (RUSSELL UND HESPELL, 1981). Wird die Energie des Struktur-CHO Cellulose langsam und damit spät freigesetzt, resultiert daraus bei einer schnell verfügbaren N-Quelle in Form von NPN ein Ammoniaküberhang, dargestellt als verfügbarer N, da dieses lange Zeit aufgrund des Energiemangels nicht genutzt werden konnte.

2. Nach CHALUPA (1968) kann NPN als alleinige N-Quelle eine Unterversorgung hinsichtlich C-Skeletten, die für den Erhaltungsbedarf und Syntheseprozesse der Bakterien benötigt werden, und verzweigtkettigen Fettsäuren induzieren. Hintergrund ist die Rolle der AS Valin, Isoleucin und Leucin als Vorläufer für die Synthese der verzweigtkettigen flüchtigen Fettsäuren Isobutyrat, Isovalerat und 2-Methylbutyrat, die besonders für die vorherrschenden Cellulolyten essentielle Wachstumsfaktoren darstellen (ALLISON UND BRYANT, 1958; BRYANT ET AL., 1959; BRYANT UND ROBINSON, 1961; BRYANT, 1973) oder ihr Wachstum stark stimulieren (VAN GYLSWYK, 1970; RUSSELL UND SNIFFEN, 1984). Auch das Wachstum des Pilzes *N. patriciarum* wird durch AS und verzweigte kurzkettige Fettsäuren verbessert (ORPIN UND GREENWOOD, 1986). Außerdem erfolgt die Synthese der genannten Wachstumsfaktoren vorrangig durch *P. ruminicola* und *M. elsdenii*, die teilweise per se einen obligaten AS- bzw. Peptidbedarf aufweisen (FORSBERG, 1978; COTTA UND RUSSELL, 1982; PITTMAN UND BRYANT 1964; PITTMAN ET AL., 1967).

Der Verdacht eines Mangels an Wachstumsfaktoren bei der Kombination Cellulose-NPN gründet sich hauptsächlich auf die Abweichungen bei der Gasbildung in Abhängigkeit vom Verhältnis Pansensaft zu Pufferlösung gegenüber den übrigen Behandlungen (siehe Abb. 7 bis 10). Während bei letztgenannten die Inkubationsreihen ebenso in der Lage waren, mit lediglich 2,5 ml Pansensaft ein hohes Gasbildungsniveau zu erreichen, blieb die Gasbildung bei 2,5 ml bei Cellulose-NPN auch bei hohen verfügbaren N-Mengen deutlich zurück.

## Kapitel 2

Abb. 7: Gb Cell-NPN in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis

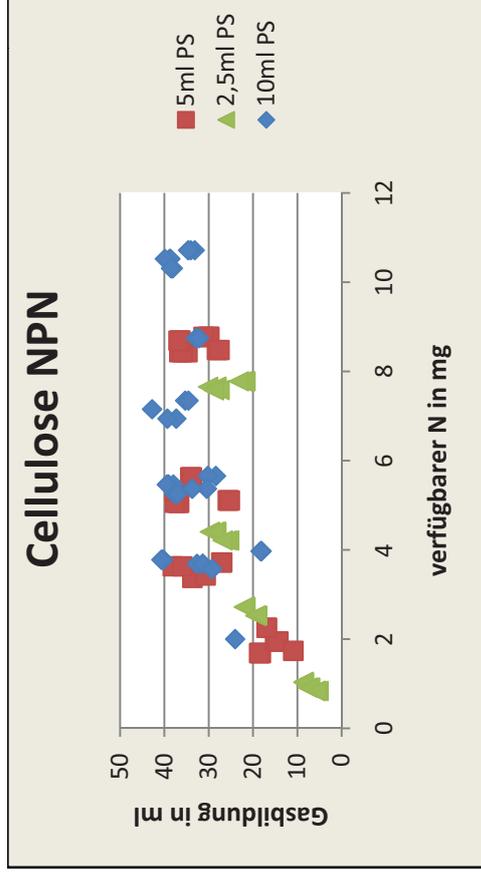


Abbildung 9: Gb Cell-Casein in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis

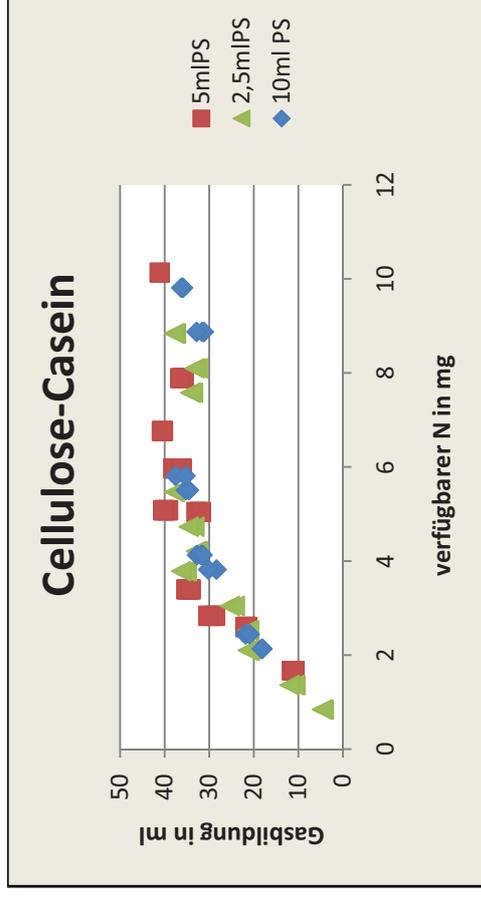


Abbildung 8: Gb Stärke-NPN in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis

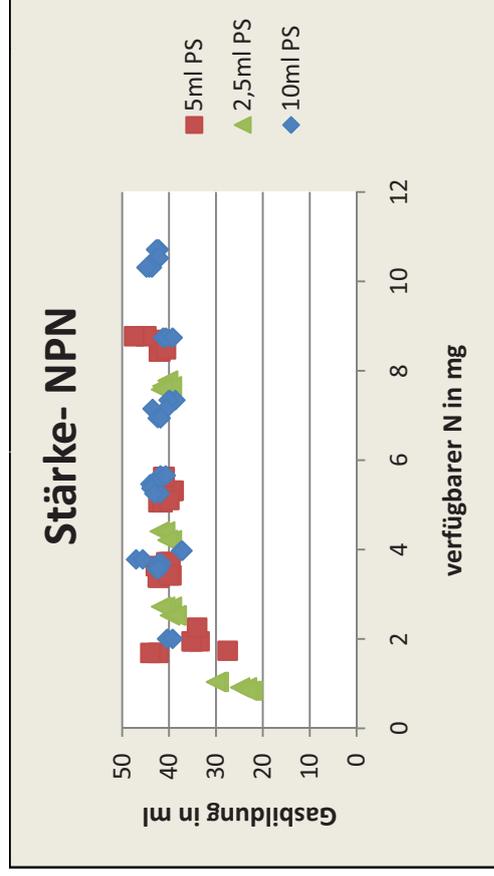
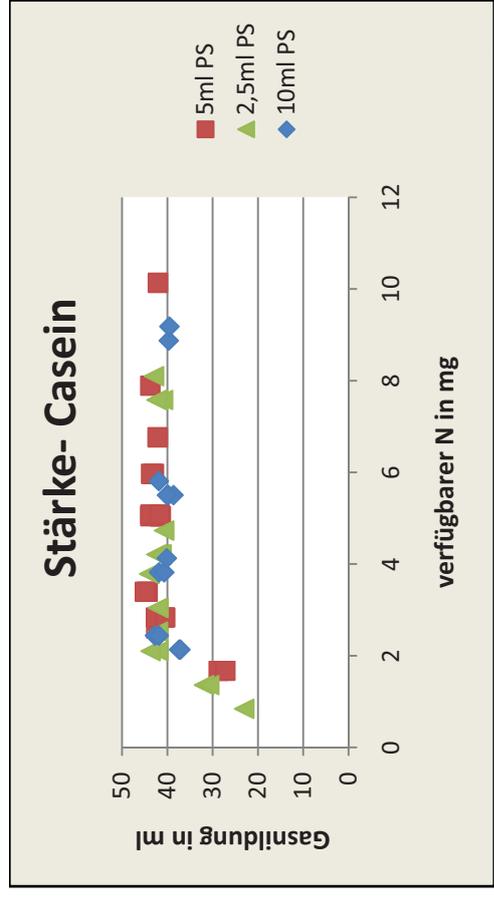


Abbildung 10: Gb Stärke-Cas in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis



## Kapitel 2

---

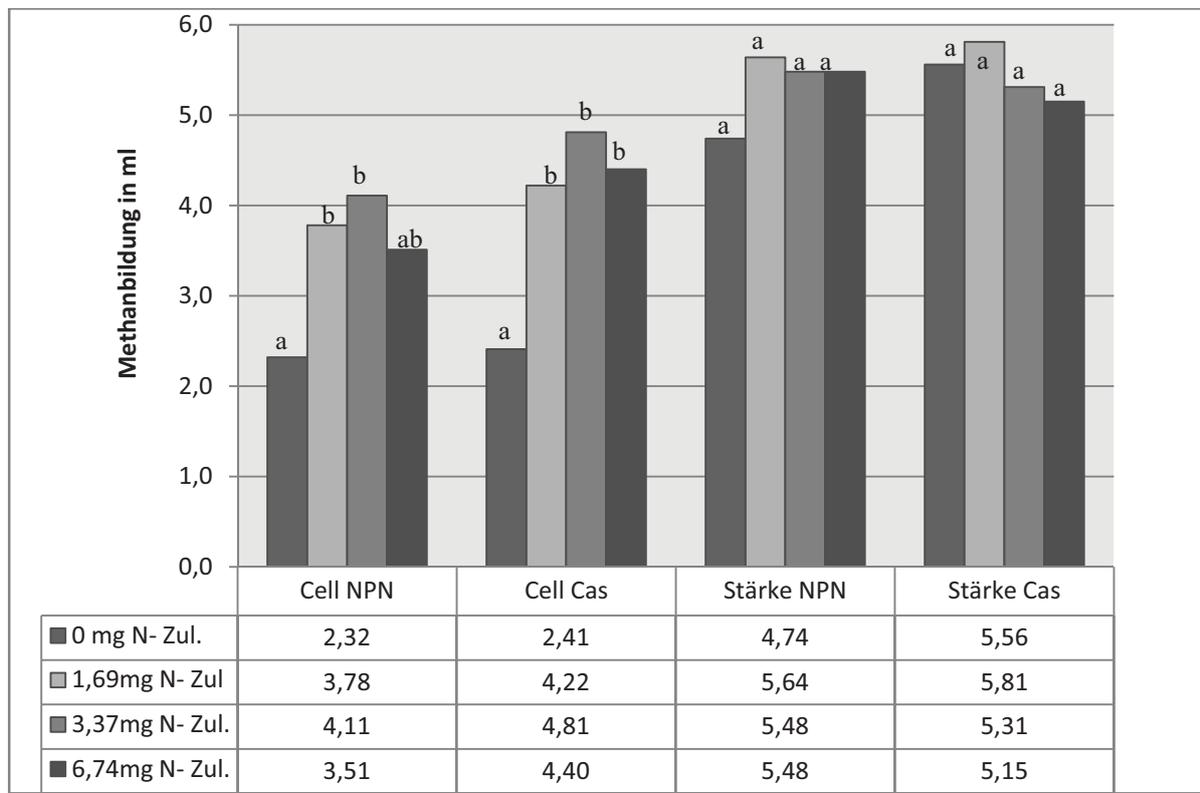
3. Ebenfalls könnte verbunden mit einer ausschließlichen NPN-Quelle ein Defizit der Mineralstoffe Calcium, Phosphor, Schwefel, Magnesium, Natrium, Kalium und Chlor vorliegen, welches die mikrobielle Synthese negativ beeinflusst (DURAND UND KAWASHIMA, 1980; DURAND UND KOMISARCZUK, 1988). Jedoch wurden mit dem Puffermedium die genannten Mineralstoffe in ausreichendem Maße supplementiert, so dass ein Mangel an diesen Elementen unwahrscheinlich ist.

Cellulose als CHO-Quelle zeigte eine signifikant niedrigere Mb mit durchschnittlich 3,7 ml gegenüber Stärke mit 5,4 ml CH<sub>4</sub> bezogen auf 100 mg CHO-TM. Die höhere Methanbildung der Stärkevarianten ist auf die höhere Verdaulichkeit von Stärke gegenüber Cellulose zurückzuführen, indem Stärke bei identischer Substratdosis eine höhere Menge verdaulicher CHO im Vergleich zu Cellulose beinhaltet und somit mehr Methan produziert werden kann (BRATZLER UND FORBES, 1940).

Die Mb fiel signifikant höher für die N-Quelle Casein mit im Mittel 4,7 ml im Vergleich zu NPN mit 4,4 ml aus. Auch innerhalb der CHO-Kombinationen erreichten die Caseinvarianten mit 4,0 und 5,5 ml jeweils höhere Werte gegenüber den NPN-CHO Kombinationen mit 3,4 und 5,3 ml, wobei diese Unterschiede im Gegensatz zur Gasbildung signifikant ausfielen. Aus dieser Beobachtung könnte auf eine stärkere Empfindlichkeit der Methanbildner hinsichtlich der verwendeten N-Quellen geschlossen werden, außerdem ist eine Präferenz der Methanbildner hinsichtlich Casein und damit Protein-N festzustellen, der abgebaut zu AS essentiell bzw. stimulativ für *Methanobrevibacter ruminantium* und *Methanomicrobium mobile* ist (BRYANT ET AL., 1971; TANNER UND WOLFE, 1988). Darüber hinaus dienen die AS Methionin und Cystein als Schwefeldonatoren (SCHERER UND SAHM, 1981).

Parallel zur Gasbildung trat durch Steigerung auf die 1,69 mg N-Zulagestufe ein signifikanter Anstieg der Methanproduktion bei den Cellulosevarianten auf, wohingegen bei den Stärkevarianten hinsichtlich des eingebrachten N-Levels über alle Stufen hinweg keine signifikanten Änderungen in der gebildeten Methanmenge auftraten (siehe Abb. 11). Dies deutet auf bereits ausreichend verfügbare N-Verbindungen aus dem Pansensaft für die Stärkekombinationen hin.

Abbildung 11: Methanbildung in Abhängigkeit von der N-Zulagestufe innerhalb der einzelnen CHO-N-Behandlungskombinationen



Erreichten die Cellulosekombinationen bei einer N-Zulage von 3,37 mg/Kolbenprober mit 4,11 ml und 4,81 ml ihre höchste Methanproduktion, wurden bei den Stärkekombinationen ihre Höchstwerte bereits bei der halbierten N-Zulagestufe von 1,69 mg erzielt. Bei einer weiteren Steigerung der N-Dosierung nahm sowohl bei den Cellulose- als auch bei den Stärkebehandlungen die synthetisierte Methanmenge tendenziell wieder ab. Dies stimmt überein mit einer Untersuchung von FINGER (1999), die *in vitro* den Einfluss vier unterschiedlich hoher N-Zulagen im Inokulum auf die Methanproduktion der Substrate Maisstärke und Heu überprüft hatte und ebenfalls bei überhöhten N-Gehalten einen tendenziellen Rückgang der Methanproduktion feststellte. Auch TOKURA ET AL. (1997) berichten von einer Reduktion der Methanbildung bei zunehmender Konzentration von Ammoniumchlorid, wobei ein gradueller Rückgang bei freilebenden Methanbildnern und ein plötzlicher starker Abfall bei mit Ciliaten assoziierten Methanbildnern mit einer Konzentration von 10 g/l Ammoniumchlorid auftrat.

Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit ergaben sich bei FINGER (1999) keine signifikanten Unterschiede von der Nullvariante auf höhere N-Niveaus (1,685/3,369/5,054). Als mögliche Ursache für die Abweichungen zwischen den beiden Studien kommen unterschiedliche

## Kapitel 2

---

Pansensaft-N-Gehalte in Betracht, die trotz standardisierter Fütterung der Spendertiere schwanken und deshalb den N-Gehalt in jedem Ansatz um diesen Gehalt zusätzlich zur N-Stufe modulieren. Bei FINGER (1999) betragen die N-Gehalte pro ml Pansensaft 0,049 bis 0,147 mg, in der vorliegenden Untersuchung 0,049 bis 0,166 mg, womit ein durchaus vergleichbarer Rahmen gegeben ist. Um den Einfluss der Pansensaft-N-Gehalte auf die N-Stufe herabzusetzen, wurde in der vorliegenden Studie zusätzlich das Verhältnis Pansensaft zu Puffermedium variiert, wodurch eine stärkere Differenzierung bei niedrigen N-Stufen erreicht werden kann (siehe Abb. 12-15).

Auch bei der Methanproduktion wurde die gebildete Methanmenge in Beziehung zum verfügbaren N pro Inkubationseinheit gesetzt und mit Hilfe einer segmentierten quadratischen Funktion der minimale N-Bedarf der Methanbildner für eine optimale Methanogenese ermittelt. Mit 4,8 mg und 5,3 mg/100mg CHO TM besitzen die Cellulosekombinationen einen deutlich höheren Bedarf an verfügbarem N als die Stärkekombinationen mit 2,1 und 2,6 mg/100 mg CHO TM. Bei der Cellulose-Caseinvariante wurde bei 2,5 ml Pansensaft eine ebenso hohe Mb erreicht wie bei 5 bzw 10 ml Pansensaft, so daß kein Mangel an einem Wachstumsfaktor aus dem Pansensaft bestehen dürfte. Dagegen ist bei der Kombination Cellulose-NPN bei 2,5 ml Pansensaft ein Abfall in der Mb gegenüber den übrigen Pansensaft-Pufferverhältnissen zu beobachten, womit ein pansensaftbürtiger Wachstumsfaktor limitierend sein könnte.

Der minimale N-Bedarf für eine optimale Mp lag bei der Kombination Cellulose-Casein und der Kombination Stärke-Casein jeweils höher gegenüber den entsprechenden NPN-Varianten. Diese Beobachtung könnte mit der N-Quelle Casein in Verbindung stehen. Wenn man davon ausgeht, dass Methanbildner als Haupt-N-Quelle Ammoniak nutzen (BRYANT ET AL., 1971; WHITMAN, 1985; KÖNIG UND STETTER, 1989) und nur eingeschränkt Protein bzw. AS verwerten können, ist deren Wachstum solange begrenzt, bis das Casein zu Ammoniak abgebaut worden ist. Dementsprechend erhöht sich der minimale N-Bedarf, da in der Zwischenzeit Bakterien, welche in der Lage sind, Peptide bzw. AS verwerten, bereits gewachsen sein können. Im Falle der Cellulolyten wäre dies in erster Linie *But. fibrisolvens* (RUSSELL, 1984), bei den Amylolyten gilt dies eingeschränkt für *S. bovis*, welcher auf Casein zu wachsen vermag (RUSSELL ET AL., 1981).

## Kapitel 2

Abb. 12: Mb Cell-NPN in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis

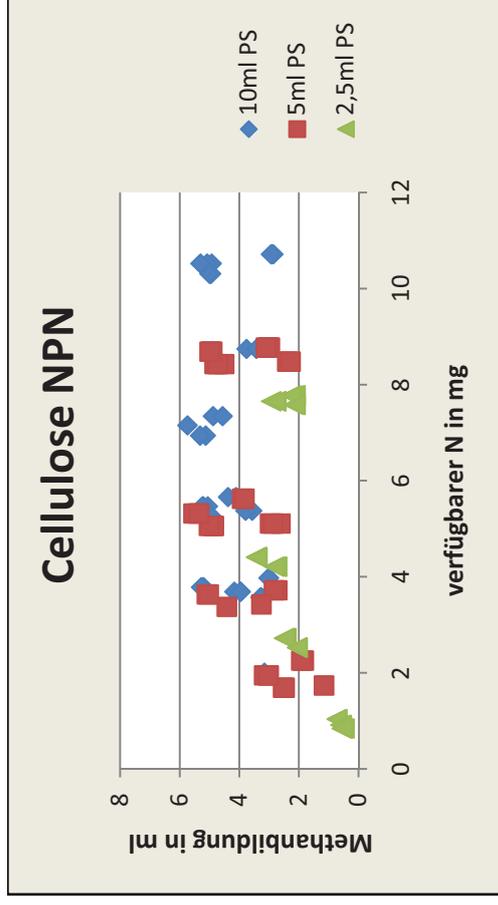


Abbildung 14: Mb Cell-Cas in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis

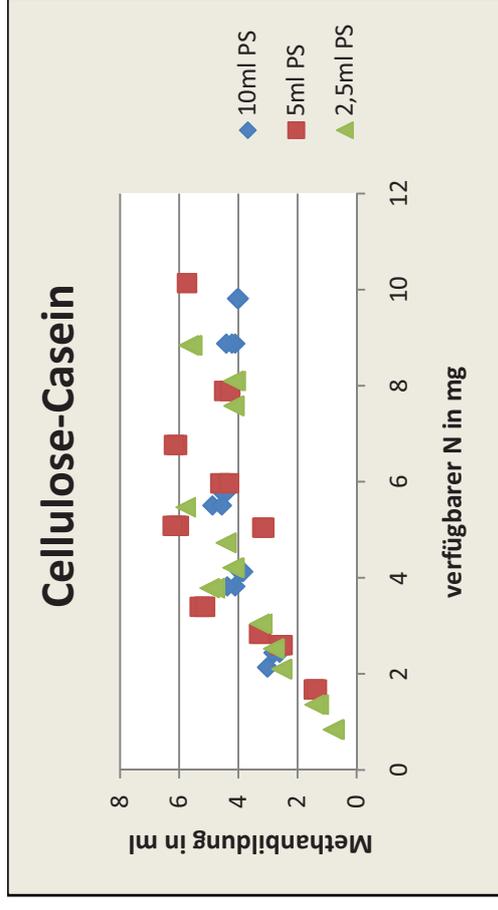


Abbildung 13: Mb Stärke-NPN in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis

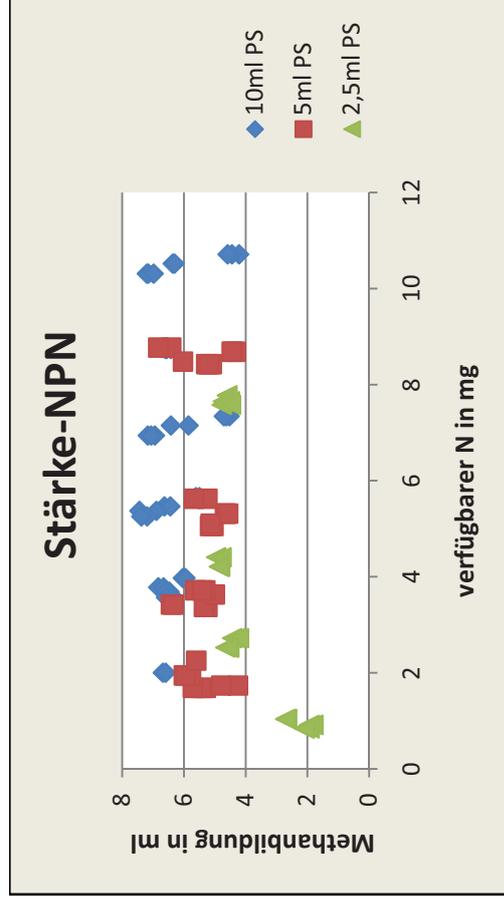
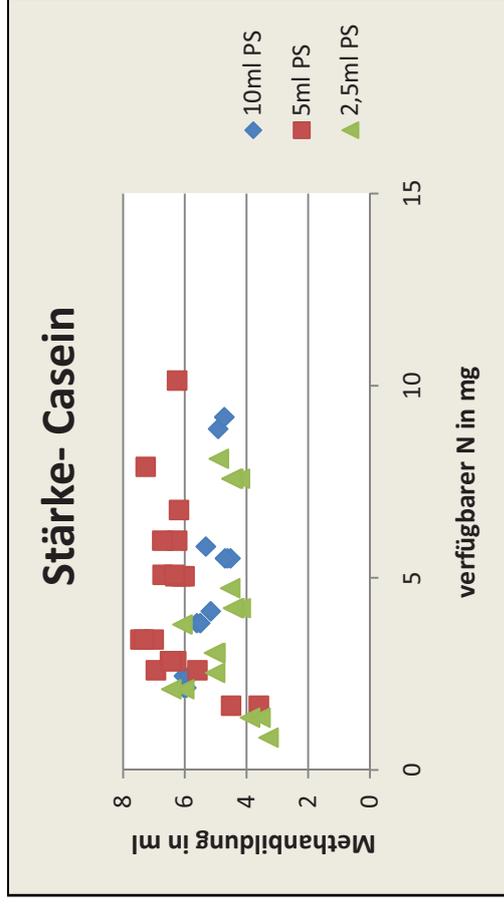


Abbildung 15: Mb Stärke-Cas in Abhängigkeit vom Pansensaft-Pufferverhältnis



### **Schlussfolgerung**

Die CHO-Quelle Stärke besitzt eine höhere Verdaulichkeit (Gasbildung) gegenüber Cellulose. Die höhere Verdaulichkeit der Stärke bedingt infolge einer größeren Menge an verdaulichen CHO eine signifikant höhere Methanproduktion.

Die signifikant höhere Methanproduktion bei der N-Quelle Casein im Vergleich zur N-Quelle NPN weist auf eine Präferenz der Methanbildner hinsichtlich Protein- bzw. AS-N hin.

Der N-Bedarf der Methanbildner ist unter dem der übrigen Pansenmikroorganismen anzusiedeln. Das bedeutet für die letztgenannten bei einer geringen N-Zufuhr eine Depression der Verdaulichkeit und damit ein limitiertes Leistungsvermögen. Erst bei noch stärkerer Absenkung der N-Zufuhr erfolgte eine Reduktion der Methanogenese. Aus diesem Grund ist eine Verminderung der N-Zufuhr nicht als eine adäquate Maßnahme für eine Reduzierung der Methanemission zu erachten.

Bei Betrachtung des N-Bedarfs in Abhängigkeit von der CHO-Quelle liegt dieser bei der amylolytischen Flora unterhalb des N-Bedarfes der Cellulose-fermentierenden Mikroben. Darüber hinaus wird bei der Kombination der N-Quelle NPN mit der CHO-Quelle Cellulose die Ammoniak-N-Nutzung von weiteren Wachstumsfaktoren beeinflusst.

## 2.5 Literaturverzeichnis

- ABOU AKKADA, A.R. UND B.H. HOWARD (1961)**  
The biochemistry of rumen protozoa, 4. Decomposition of pectic substances, Biochem. J. 78, 512-517
- ABOU AKKADA, A.R. UND B.H. HOWARD (1962)**  
The biochemistry of rumen protozoa, 5. The nitrogen metabolism of Entodinium, Biochem. J. 82, 313-320
- ABOU AKKADA, A.R., J.M. EADIE UND B.H. HOWARD (1963)**  
The biochemistry of rumen protozoa, 7. The carbohydrases of Polyplastron multivesiculatum, Biochem. J. 89, 268-272
- AHUJA, S.P. UND T.C. SARNAH (1979)**  
Studies on the activity of rumen protozoa, II. Utilization of U<sup>14</sup> GL serine by rumen protozoa, Zentralbl. Veterinärmed. Reihe A, 26, 551-557
- ALLISON, M.J. UND M. P. BRYANT (1958)**  
Volatile fatty acid growth factor for cellulolytic cocci of bovine rumen, Science, 129, 474-475
- ALLISON, M.J. UND M. P. BRYANT (1963)**  
Biosynthesis of branched-chain amino acids from branched-chain fatty acids by rumen bacteria, Arch. Biochem. Biophys. 101, 269-277
- ALLISON, M.J., M. P. BRYANT UND R.N. DOETSCH (1959)**  
Conversion of isovalerate to leucine by Ruminococcus flavefaciens, Arch. Biochem. Biophys. 84, 246-247
- ARCHER, D. B. UND J. E. HARRIS (1986)**  
Methanogenic bacteria and methane production in various habitats, in: Anaerobic bacteria in habitats other than man, Hrsg: E. M. Barnes, G.C. Mead Blackwell Science Publications Oxford
- ARGYLE, J. L. UND R.L. BALDWIN (1989)**  
Effect of amino acids and peptides on rumen microbial growth yields, J. Dairy Sci. 72, 2017-2027
- ATASOGLU, C. UND R. J. WALLACE (2003)**  
Metabolism and de novo synthesis of amino acids by rumen microbes, in: Amino acids in Animal nutrition, Hrsg. J.P.F. D'Mello, 2<sup>nd</sup> edition, CAB International
- ATTWOOD, G.T. UND K. REILLY (1995)**  
Identification of proteolytic rumen bacteria isolated from New Zealand, J. Appl. Bacteriol. 79, 22-29
- ATTWOOD, G.T., A.V. KLIEVE, D. OUWERKERK UND B.K.C. PATEL (1998)**  
Ammonia-hyperproducing bacteria from New Zealand ruminants, Appl. Environm. Microbiol. 64, 1796-1804
- BAILEY, R.W. UND B.D.E. GAILLARD (1965)**  
Carbohydrases of the rumen ciliate Epidinium ecaudatum. Hydrolysis of plant hemicellulose fractions and  $\beta$ -linked glucose polymers, Biochem. J. 95, 758-766
- BALCH, W.E., G. E. FOX, W. F. MAGRUM, C. R. WOESE UND R. S. WOLFE (1979)**  
Methanogens: Reevaluation of a unique biological group, Microbiol. Rev. 43, 260-296
- BALDWIN, R.L. UND M.J. ALLISON (1983)**  
Rumen metabolism, J. Anim. Sci. 57, 461-475
- BAUCHOP, T. UND D.O. MOUNTFORT (1981)**  
Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and presence of rumen methanogens, Appl. Environm. Microbiol. 42, 1103-1110

**BELASCO, I.J. (1956)**

The role of carbohydrates in urea utilization, cellulose digestion and fatty acid formation, *J. Anim. Sci.* 15, 496-508

**BERNALIER, A., G. FONTY UND PH. GOUET (1991)**

Cellulose degradation by two rumen anaerobic fungi in monoculture or in coculture with rumen bacteria, *Anim. Feed Sci. Technol.* 32, 131-136

**BERNALIER, A., G. FONTY, F. BONNEMOY UND PH. GOUET (1992)**

Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria, *Curr. Microbiol.* 25, 143-148

**BHATNAGAR, L., M.K. JAIN, J.-P. AUBERT UND J. G. ZEIKUS (1984)**

Comparison of assimilatory organic nitrogen, sulfur and carbon sources for growth of methanobacterium species, *Appl. Environm. Microbiol.* 48, 785-790

**BIRD, S.H., J.V. NOLAN UND R.A. LENG (1990)**

The nutritional significance of rumen protozoa, in: *The rumen ecosystem*  
Hrsg: S. Hashino, R. Onodera, H. Minato und H. Itabashi, Japan Scientific Press

**BLACKBURN, T.H. (1968)**

Protease production by *Bacteroides amylophilus* strain H18, *J. Gen. Microbiol.* 53, 27

**BLADEN, H.A., M. P. BRYANT UND R.N. DOETSCH (1961)**

A study of bacterial species from the rumen which produce ammonia from protein hydrolyzate, *Appl. Microbiol.* 9, 175-180

**BOHATIER, J. (1990)**

Rumen protozoa: Taxonomy, Cytology and feeding behaviour, in: *INRA Clermont Ferrand Indian summer course on rumen microbial metabolism and ruminant digestion*

**BONHOMME-FLORENTIN, A. (1974)**

Contribution à l'étude de la physiologie des ciliés Entodiniomorphes endocommensaux des ruminants et des équidés, *Ann. Sci. Nat.* 16, 155-283

**BONHOMME-FLORENTIN, A. (1975)**

Activité uréolytique des ciliés Entodiniomorphes endocommensaux des ruminants  
*Protistologica* 11, 325-329

**BONHOMME, A. (1990)**

Rumen ciliates: Their metabolism and relationships with bacteria and their hosts,  
*Anim. Feed Sci. Technol.* 30, 203-266

**BRATZLER, J.W. UND E.B. FORBES (1940)**

The estimation of methane production by cattle, *J. Nutr.* 19, 611-613

**BREVES, G. UND S. LEONHARD-MAREK (2000)**

Verdauungsvorgänge in den Vormägen, in: *Physiologie der Haustiere*,  
Hrsg. W. v. Engelhardt und G. Breves, Enke im Hippokrates Verlag

**BROAD, T.E. UND R.M.C. DAWSON (1975)**

Phospholipid biosynthesis in the anaerobic protozoon *Entodinium caudatum*,  
*Biochem. J.* 146, 317-328

**BROAD, T.E. UND R.M.C. DAWSON (1976)**

Role of choline in the nutrition of the rumen protozoon *Entodinium caudatum*,  
*J. Gen. Microbiol.* 92, 391-397

**BROCK, F.M., C.W. FORSBERG UND J.G. BUCHANAN-SMITH (1982)**

Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors,  
*Appl. Environm. Microbiol.* 44, 561-569

**BRYANT, M.P. (1963)**

Symposium on microbial digestion in ruminants: Identification of groups of anaerobic bacteria active in the rumen, *J. Anim. Sci.* 22, 801-813

**BRYANT, M.P. (1965)**

Rumen methanogenic bacteria in: Physiology of digestion in the ruminant,  
Hrsg: R.W. Dehority

**BRYANT, M.P. (1973)**

Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria,  
Fed. Proc. 32, 1809-1813

**BRYANT, M.P. (1984)**

Lachnospira, in: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.1,  
Hrsg. N.R. Krieg und J.G. Holt, Williams und Wilkins, Baltimore

**BRYANT, M.P. UND I.M. ROBINSON (1961)**

Some nutritional requirements of the genus Ruminococcus, Appl. Microbiol. 9, 91-95

**BRYANT, M.P. UND I.M. ROBINSON (1962)**

Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria,  
J. Bacteriol. 84, 605-614

**BRYANT, M.P. UND I.M. ROBINSON (1963)**

Apparent incorporation of ammonia and amino acid carbon during growth of selected  
species of ruminal bacteria, J. Dairy Sci. 46, 150-154

**BRYANT, M.P., I.M. ROBINSON UND H. CHU (1959)**

Observations on the nutrition of Bacteriodes succinogenes – a ruminal cellulolytic  
bacterium, J. Dairy Sci. 42, 1831-1847

**BRYANT, M.P., S. F. TZENG, I.M. ROBINSON UND A.E. JOYNER JR. (1971)**

Nutrient requirements of methanogenic bacteria, in: Anaerobic biological treatment  
processes, Hrsg: F.G. Pohland, Advances in chemistry series 105, American Chemical  
Society, Washington DC, 23-40

**CARRO, M.D. UND E.L. MILLER (1999)**

Effect of supplementing a fibre basal diet with different nitrogen forms on ruminal  
fermentation and microbial growth in an *in vitro* semicontinuous culture system  
(RUSITEC), Br. J. Nutr. 82, 149-157

**CARROLL, E.J. UND R.E. HUNGATE (1955)**

Formate dissimilation and methane production in bovine rumen contents,  
Arch. Biochem. Biophys. 56, 525-536

**CHALUPA, W. (1968)**

Problems in feeding urea to ruminants, J. Anim. Sci. 27, 207-219

**CHEN, M. UND M.J. WOLIN (1977)**

Influence of CH<sub>4</sub> production by methanobacterium ruminantium on the fermentation of  
glucose and lactate by selenomonas ruminantium,  
Appl. Environm. Microbiol. 34, 756-759

**CHEN, G. UND J.B. RUSSELL (1989)**

More monensin-sensitive, ammonia producing bacteria from the rumen,  
Appl. Environm. Microbiol. 55, 1052-1057

**CHENG, K.-J. UND J.W. COSTERTON (1980)**

Adherent rumen bacteria - their role in the digestion of plant material, urea and epithelial  
cells, in: Digestive physiology and metabolism in ruminants, Hrsg.: Y. Ruckebusch, P.  
Thivend, Falcon House, MTP Press

**COEN, J.A. UND B.A. DEHORITY (1970)**

Degradation and utilization of hemicellulose from intact forages by pure cultures of  
rumen bacteria, Appl. Microbiol. 29, 362-368

**COLEMAN, G.S. (1964)**

The metabolism of <sup>14</sup>C-glycine and <sup>14</sup>C-bicarbonate by washed suspensions of the rumen ciliate *Entodinium caudatum*, *J. Gen. Microbiol.* 35, 91-103

**COLEMAN, G.S. (1968)**

The metabolism of bacterial nucleic acid and of free components of nucleic acid by the rumen ciliate *Entodinium caudatum*, *J. Gen. Microbiol.* 54, 83-96

**COLEMAN, G.S. (1967)**

The metabolism of free amino acids by washed suspensions of the rumen ciliate *Entodinium caudatum*, *J. Gen. Microbiol.* 47, 433-447

**COLEMAN, G.S. (1969)**

The metabolism of starch maltose, glucose and some other sugars by the rumen ciliate *Entodinium caudatum*, *J. Gen. Microbiol.* 57, 303-332

**COLEMAN, G.S. (1975)**

The interrelationships between rumen ciliate protozoa and bacteria, in: *Digestion and metabolism in the ruminant*, Hrsg: I.W. McDonald und A.C. Warner, University of New England Publishing Unit, Armidale, Australia

**COLEMAN, G.S. (1978)**

Rumen entodiniomorphid protozoa, in: *Methods of cultivating parasites in vitro*, Hrsg.: J. R. Baker und A.E.R. Taylor, London Academic Press

**COLEMAN, G.S. (1979)**

The role of rumen protozoa in the metabolism of ruminants given tropical feeds, *Tropical Animal Production* 4, 199-213

**COLEMAN, G.S. (1980)**

Rumen ciliate protozoa, in: *Advances in parasitology* 18, 121-173

**COLEMAN, G.S. (1983)**

Hydrolysis of fraction I leaf protein and casein by rumen entodiniomorphid protozoa, *J. Appl. Bacteriol.* 55, 111-118

**COLEMAN, G.S. (1986A)**

The distribution of carboxymethylcellulase between fractions taken from the rumen of sheep containing no protozoa or one of five different protozoal populations, *J. Agric. Sci.* 105, 39-43

**COLEMAN, G.S. (1986B)**

The amylase activity of 14 species of entodiniomorphid protozoa and the distribution of amylase in digesta fractions of sheep containing no protozoa or one of seven different protozoal populations, *J. Agric. Sci.* 106, 121-127

**COLEMAN, G.S. (1987)**

Rumen entodiniomorphid protozoa, in: *In vitro methods for parasite cultivation*, Hrsg. A.E.R. Taylor und J.R. Baker, Academic Press, London

**COLEMAN, G.S., J.I. LAURIE, J.E. BAILEY UND S.A. HOLDGATE (1976)**

The cultivation of cellulolytic protozoa isolated from the rumen, *J. Gen. Microbiol.* 95, 364-374

**COLEMAN, G.S. UND D.C. SANDFORD (1979)**

The engulfment and digestion of mixed rumen bacteria and individual bacterial species by single and mixed species of rumen ciliate protozoa grown in vivo, *J. Agric. Sci. Camb.* 92, 729-742

**COLEMAN, G.S. UND D.C. SANDFORD (1980)**

The uptake and metabolism of bacteria, amino acids, glucose and starch by the spined and spineless forms of the rumen ciliate *Entodinium caudatum*, *J. Gen. Microbiol.* 117, 411-418

**COLEMAN, G.S. UND D.J. REYNOLDS (1982)**

The effect of sterols and haemin on the growth of the rumen ciliate *Ophryoscolex caudatus* and some other Entodiniomorphid protozoa,  
J. Appl. Bacteriol. 52, 129-134

**COLEMAN, G.S., D.C. SANDFORD UND S. BEAHON (1980)**

The degradation of polygalacturonic acid by rumen ciliate protozoa,  
J. Gen. Microbiol. 62, 265-266

**COOK, A.R. (1976)**

Urease activity in the rumen of sheep and the isolation of ureolytic bacteria,  
J. Gen. Microbiol. 92, 32-48

**COTTA, M.A. UND J.B. RUSSELL (1982)**

Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture, J. Dairy Sci. 65, 226-234

**COTTA, M.A. UND R.B. HESPELL (1984)**

Protein and amino acid metabolism of rumen bacteria, in: Control of digestion and metabolism in ruminants, Hrsg. L.P. Milligan, W.L. Grovum und A. Dobson, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey

**COTTA, M.A. UND R.B. HESPELL (1986)**

Proteolytic activity of the ruminal bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*,  
Appl. Environm. Microbiol. 52, 51-58

**CRUZ SOTO R., S.A. MUHAMMED, C.J. NEWBOLD, C.S. STEWART UND R.J. WALLACE (1994)**

Influence of peptides, amino acids and urea on microbial activity in the rumen of sheep receiving grass hay and on the growth of rumen bacteria in vitro,  
Anim. Feed Sci. Technol. 49, 151-161.

**CZERKAWSKI, J.W. (1986)**

An introduction to rumen studies, Pergamon Press, New York

**DAVIES, D.R., M.K. THEODOROU, M.I.G. LAWRENCE UND A.P.J. TRINCI (1983)**

Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces,  
J. Gen. Microbiol. 139, 1395-1400

**DEHORITY, B.A. (1969)**

Pectin fermenting bacteria isolated from the bovine rumen, J. Bact. 99, 189-196

**DEHORITY, B.A. (1973)**

Hemicellulose degradation by rumen bacteria, Federation Proceedings 32, 1819-1825

**DEHORITY, B.A. (2003)**

Rumen microbiology, Nottingham University Press

**DEHORITY, B.A. UND H.W. SCOTT (1967)**

Extent of cellulose and hemicellulose digestion in various forages by pure cultures of rumen bacteria, J. Dairy Sci. 50, 1136-1141

**DEHORITY, B.A. UND J.A. GRUBB (1976)**

Basal medium for the selective enumeration of rumen bacteria utilizing specific energy sources, Appl. Environm. Microbiol. 32, 703-710

**DE MOLL, E. (1993)**

Nitrogen and phosphorus metabolism of methanogens, in: Methanogenesis ecology, physiology, biochemistry and genetics, Hrsg.: J. G. Ferry Chapman und Hall New York/London

**DE MOLL, E. UND L. TSAI (1986)**

Utilization of purines or pyrimidines as the sole nitrogen source by *Methanococcus vannielii*, J. Bacteriol. 167, 681-684

**DI MARCO A.A., T.A. BOBIK, UND R.S. WOLFE (1990)**

Unusual coenzymes of methanogenesis, Annu.Rev. Biochem. 59, 355-394

**DEMEYER, D.I. (1981)**

Rumen microbes and digestion of plant cell walls, *Agric. Environm.*6, 295-337

**DEMEYER, D.I., C. HENDERSON UND R.A. PRINS (1978)**

Relative significance of exogenous and de novo synthesized fatty acids in the formation of rumen microbial lipids in vitro, *Appl. Environm. Microbiol.*35, 24-31

**DURAND M. UND R. KAWASHIMA (1980)**

Influence of minerals in rumen microbial digestion, in: *Digestive physiology and metabolism in ruminants*, Hrsg. Y. Ruckebusch, P. Thivend, MTP Press, Lancaster

**DURAND M. UND S. KOMISARCZUK (1988)**

Influence of major minerals on rumen microbiota, *J. Nutr.*118, 249-260

**ERFLE, J.D., F.D. SAUER UND S. MAHNADEVAN (1977)**

Effect of ammonia concentration on activity of enzymes of ammonia assimilation and on synthesis of amino acids by mixed rumen bacteria in continuous culture, *J. Dairy Sci.* 60, 1064-1072

**ESCHENLAUER, S.C.P., N. MCKAIN, N.D. WALKER, N.R. MCEWAN, C.J. NEWBOLD UND R.J. WALLACE (2002)**

Ammonia production by ruminal microorganisms, and enumeration, isolation and characterization of bacteria capable of growth in peptides and amino acids from sheep rumen, *Appl. Environm. Microbiol.* 68. 4925-4931

**FENCHEL, T. UND B.J. FINLAY (1992)**

Production of methane and hydrogen by anaerobic ciliates containing symbiotic methanogens, *Arch. Microbiol.* 157, 475-480

**FINGER, T. (1995)**

Methanbildung bei Inkubation verschiedener Substrate mit Pansensaft in vitro, Diplomarbeit Institut für Tierernährung, Universität Hohenheim

**FINGER, T. (1999)**

Methanbildung beim Wiederkäuer nach Zulage teilgeschützter Fette in vitro und in vivo. Dissertation Institut für Tierernährung, Universität Hohenheim

**FINLAY, B.J., G. ESTEBAN, K.J. CLARKE, A.G. WILLIAMS, T.M. EMBLEY UND R.P. HIRT (1994)**

Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens, *FEMS Microbiol. Lett.* 117, 157-162

**FIRKINS, J.L., L.L. BERGER, N.R. MERCHEN, G.C. FAHEY, JR., AND R.L. MULVANEY (1987)**

Ruminal nitrogen metabolism in steers as affected by feed intake and dietary urea concentration, *J. Dairy Sci.*70, 2302-2311

**FLINT, H.J. UND A.M. THOMSON (1990)**

Deoxyribonuclease activity in rumen bacteria, *Lett. Appl. Microbiol.* 11, 18-21

**FONTY, G. UND K.N. JOBLIN (1991)**

Rumen anaerobic fungi: Their role and interactions with other rumen microorganisms in relation to fiber digestion, in: *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*, Hrsg. T. Tsuda, Y. Sasaki und R. Kawashima, Academic Press, San Diego

**FONTY, G. UND PH. GOUET (1994)**

Plant cell wall degradation by anaerobic fungi, in: *Micro-Organisms in Ruminant Nutrition*, Hrsg. R.A. Prins und C.S. Stewart Nottingham University Press

**FONTY, G., PH. GOUET UND V. SANTÉ (1988)**

Influence d'une bactérie méthanogène sur l'activité cellulolytique et le métabolisme de deux espèces de champignons cellulolytiques du rumen in vitro, *Reprod. Nutr. Develop.* 28, 133-134

**FORSBERG, C.W. (1978)**

Nutritional characteristics of *Megasphaera elsdenii*, *Can. J. Microbiol.* 24, 981

- FORSBERG, C.W., L.K. LOVELOCK, L. KRUMHOLZ UND J.G. BUCHANAN-SMITH (1984)**  
Protease activities of rumen protozoa, *Appl. Environm. Microbiol.* 47, 101-110
- FUJIMAKI, T., Y. KOBAYASHI, M. WAKITA UND S. HOSHINO (1989)**  
Influence of amino acid supplement on cellulolysis and microbial yield in sheep rumen, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 62, 119-124
- GIESECKE, D. (1973)**  
Biologie und Biochemie der Bakterien im Pansen, in: *Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung*, Hrsg.: D. Giesecke, H.K. Henderickx, BLV-Verlag
- GIRARD, V. UND J.C. HAWKE (1978)**  
The role of holotrichs in the metabolism of dietary linoleic acid in the rumen, *Biochimica et Biophysica Acta* 528, 17-27
- GRADEL, C.M. UND B.A. DEHORITY (1972)**  
Fermentation of isolated pectin and pectin from intact forages by pure cultures of rumen bacteria, *Appl. Microbiol.* 23, 332-340
- GRISWOLD, K.E., W.H. HOOVER, T.K. MILLER UND W.V. THAYNE (1996)**  
Effect of form of nitrogen on growth of ruminal microbes in continuous culture, *J. Anim. Sci.* 74, 483-491
- GUTIERREZ, J. (1955)**  
Experiments on the culture and physiology of holotrichs from the bovine rumen, *Biochem. J.* 60, 517-522
- HAGEMEISTER, H. UND W. KAUFMANN (1974)**  
Der Einfluss der Rationsgestaltung auf die Verfügbarkeit von Protein-N bzw. Aminosäure-N im Darm der Milchkuh, *Kieler Milchw. Forschung* 26, 199-220
- HALLIWELL, G. UND M.P. BRYANT (1963)**  
The cellulolytic activity of pure strains of bacteria from the rumen of cattle, *J. Gen. Microbiol.* 32, 441-448
- HARMEYER, J. (1971)**  
Der Aminosäurenstoffwechsel isolierter Pansenprotozoenarten (*Isotricha prostoma* und *I. intestinalis*), *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkd.* 28, 65-85
- HARMEYER, J. UND H. HEKIMOGLU (1968)**  
Acetatinkorporation durch isolierte Pansenprotozoenarten, *Zentralbl. Veterinärmed.* A15, 242-254
- HARRISON, D.G. UND A.B. MC ALLAN (1980)**  
Factors affecting microbial growth yields in the reticulorumen, in: *Digestive physiology and metabolism in ruminants*, Hrsg. Y. Ruckebusch und P. Thivend, MTP Press Lancaster
- HAZLEWOOD, G.P. UND J.H.A. NUGENT (1978)**  
Leaf fraction 1 protein as a nitrogen source for the growth of a proteolytic rumen bacterium, *J. Gen. Microbiol.* 106, 369-371
- HENNING, P.A. (1979)**  
Examination of methods for enumerating hemicelluloses-utilizing bacteria in the rumen, *Appl. Environm. Microbiol.* 38, 13-17
- HINO, T. UND J. B. RUSSELL (1987)**  
Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro, *J. Anim. Sci.* 64, 261-270.
- HOSHINO, S., M. WAKITA UND A. IIDA (1982)**  
Glycogen phosphorylase and synthase activities of rumen ciliates of the genus *Entodinium*, *J. Protozoology* 29, 543-546
- HUME, I.D. (1970)**  
Synthesis of microbial protein in the rumen, III. The effect of dietary protein, *Aust. J. Agric. Res.* 21, 305-314

**HUNGATE, R.E. (1966)**

The rumen and its microbes, Academic Press, New York

**HUNGATE, R.E. (1967)**

Hydrogen as an intermediate in the rumen fermentation,  
Archives of Microbiology 59, 158-164

**HUNGATE, R.E., W. SMITH, T. BAUCHOP, I. YU UND J.C. RABINOWITZ (1970)**

Formate as an intermediate in the bovine rumen fermentation,  
J. Bacteriol. 102, 389-397

**HUQUE, O.MD.E. UND K.V. THOMSEN (1984)**

Source of nitrogen for rumen microbes, Acta Agric. Scand. 34, 26-32

**HUTTEN, T.J., M. HENK DE JONG, B.P.H. PEETERS, C. VAN DER DRIFT, G.D. VOGELS (1981)**

Coenzyme M derivatives and their effects on methane formation from carbon dioxide and methanol by cell extracts of *Methanosarcina barkeri*, J. Bacteriol. 145, 27-34

**IVAN, M., M. HIDIROGLU UND H.V. PETIT (1991)**

Duodenal flow of nitrogen following protozoal inoculation of fauna-free sheep fed a diet supplemented with casein or soybean meal, Can. J. Anim. Sci. 71, 793-801

**JARRELL, K.F. UND M.L. KALMOKOFF (1988)**

Nutritional requirements of methanogenic archaeobacteria,  
Can. J. Microbiol. 34, 557-576

**JEROCH, H., W. DROCHNER UND O. SIMON (2008)**

Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere, 2. Auflage  
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

**JONES, W.J., D.P. NAGLE, UND W.B. WHITMAN (1987)**

Methanogens and the diversity of archaeobacteria, Microbiol. Rev. 51, 135-177

**JOUANY, J.P. (1991)**

Defaunation of the rumen, in: Rumen microbial metabolism and ruminal digestion  
Hrsg.: J.P. Jouany, INRA editions Paris

**JOUANY, J.P. UND P. THIVEND (1972)**

Evolution postprandiale de la composition glucidique des corps microbiens du rumen es fonction de la nature des glucides du régime I. Les Protozoaires, Annales de Biologie Animale Biochimie et Biophysique 12, 673-677

**JOUANY, J.P., M. IVAN, Y. PAPON UND B. LASSALAS (1992)**

Effects of *Isotricha*, *Eudiplodinium*, *Epidinium* and *Entodinium* and a mixed population of rumen protozoa on the in vitro degradation of fish meal, soybean meal and casein.  
Can. J. Anim. Sci. 72, 871-880

**KANDLER, O. UND H. HIPPE (1977)**

Lack of peptidoglycan in the cell walls of *Methanosarcina barkeri*,  
Archives of Microbiology 113, 57-60

**KANDLER, O. UND H. KÖNIG (1978)**

Chemical composition of the peptidoglycan-free cell walls of methanogenic bacteria,  
Archives of Microbiology 118, 141-152

**KHAN, A.W. (1980)**

Degradation of cellulose to methane by a coculture of *Acetivibrio cellulolyticus* and *Methanosarcina barkeri*, FEMS Microbiol. Lett. 9, 233-235

**KENNEDY, P.M. UND L.P. MILLIGAN (1980)**

The degradation and utilization of endogeneous urea in the gastrointestinal tract of ruminants: A review, Can. J. Anim. Sci. 60, 205-221

**KÖNIG, H. UND K. O. STETTER (1989)**

Archaeobacteria, in: Bergey's manual of systematic bacteriology, Hrsg.: J. T. Stanley  
Vol.3, Williams und Wilkins

- KRUMHOLZ, L.R., C.W. FORSBERG UND D.M. VEIRA (1983)**  
Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa,  
J. Microbiol. 29, 676-680
- LATHAM, M.J., J.E. STORRY UND M.E. SHARP (1972)**  
Effect of low roughage diets on the microflora and lipid metabolism in the rumen,  
Appl. Microbiol. 24, 871-877
- LATHAM, M.J. UND M.J. WOLIN (1977)**  
Fermentation of cellulose by ruminococcus flavefaciens in the presence and absence of  
methanobacterium ruminantium, Appl. Environm. Microbiol. 34, 297-301
- LENG, R.A. UND J.V. NOLAN (1984)**  
Nitrogen metabolism in the rumen, J. Dairy Sci. 67, 1072-1089
- LEWIS, D. (1951)**  
The metabolism of nitrate and nitrite in the sheep, Biochem. J. 48, 175-180
- LI, J., I.B. HEATH UND L. PACKER (1993)**  
The phylogenetic relationships of the anaerobic Chytridiomycetous gut fungi  
(Neocallimasticaceae) and the Chytridiomycota. II. Cladistic analysis of structural data  
and description of Neocallimasticales ord. nov., Can. J. Botany 71, 393-407
- LI PUN, H.H. UND L.D. SATTER (1975)**  
Nitrogen fixation in ruminants, J. Anim. Sci. 41, 1161-1163
- LIN, C., L. RASKIN UND D.A. STAHL (1997)**  
Microbial community structure in gastrointestinal tracts of domestic animals:  
comparative analyses using rRNA-targeted oligonucleotide probes,  
FEMS Microbiol. Ecol. 22, 281-294
- LING, J.R. (1990)**  
Digestion of bacterial cell walls in the rumen, in: The rumen ecosystem, Hrsg. S.  
Hashino, R. Onodera, H. Minato, H. Itabashi, Japan Scientific Societies Press
- LLOYD, D., A.G. WILLIAMS, R. AMANN, A.J. HAYES, L. DURRANT UND J.R. RALPHS (1996)**  
Intracellular prokaryotes in rumen ciliate protozoa: detection by confocal laser scanning  
microscopy after in situ hybridisation with fluorescent 16S rRNA probes,  
European Journal of Protistology 32, 523-531
- LOOSLI, J.K., H.H. WILLIAMS UND W.E. THOMAS (1949)**  
Synthesis of amino acids in the rumen, Science 110, 144-145
- LOVLEY, D.R., R.H. WHITE UND J.G. FERRY (1984)**  
Rapidly growing rumen methanogenic organism that synthesizes coenzyme M and has a  
high affinity for formate, Appl. Environ. Microbiol. 48, 81-87
- LOWE, S.E., M.K. THEODOROU, A.P.J. TRINCI UND R.B. HESPELL (1985)**  
Growth of anaerobic rumen fungi on defined and semi-defined media lacking rumen  
fluid, J. Gen. Microbiol. 131, 2225-2229
- LOWE, S.E., M.K. THEODOROU UND A.P.J. TRINCI (1987)**  
Growth and fermentation of an anaerobic rumen fungus on various carbon sources and  
effect of temperature on development, Appl. Environm. Microbiol. 53, 1210-1215
- MACHMÜLLER, A., C.R. SOLIVA UND M. KREUZER (2003A)**  
Methane-suppressing effect of myristic acid in sheep as affected by dietary calcium and  
forage proportion, Br. J. Nutr. 90, 529-540
- MACHMÜLLER, A., C.R. SOLIVA UND M. KREUZER (2003B)**  
Effect of coconut oil and defaunation treatment on methanogenesis in sheep,  
Reprod. Nutr. Dev. 43, 41-55
- MACKIE, R.I., C.S. MCSWEENEY UND A.V. KLIEVE (2002)**  
Microbial ecology of the ovine rumen, in: Sheep nutrition, Hrsg.: M. Freer und H. Dove,  
CAB International

**MAENG, W.J. UND R.L. BALDWIN (1976)**

Factors influencing rumen microbial growth rates and yields: effect of amino acids and protein, *J. Dairy Sci.* 59, 648-655

**MAGINGO, F.S.S. UND C.K. STUMM (1991)**

Nitrogen fixation by *Methanobacterium formicicum*,  
*FEMS Microbiol. Lett.* 81, 273-278

**MARVIN-SIKKEMA, F.D., A.J. RICHARDSON UND C.S. STEWART (1990)**

Influence of hydrogen-consuming bacteria on cellulose degradation by anaerobic fungi,  
*Appl. Environm. Microbiol.* 56, 3973-3977

**MAH, R.A. (1980)**

Isolation and characterization of *Methanococcus mazei*, *Curr. Microbiol.* 3, 321-326

**MC ALLISTER, T.A., E.K. OKINE, G.W. MATHISON UND K.-J. CHENG (1996)**

Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants, *Can. J. Anim. Sci.* 76, 231-243

**MCKAIN, N., R.J. WALLACE UND N.D. WATT (1992)**

Selective isolation of bacteria with dipeptidyl aminopeptidase type I activity from the sheep rumen, *FEMS Microbiol. Lett.* 95, 169-174

**MCSWEENEY, C.S., B. PALMER, R. BUNCH UND D.O. KRAUSE (1999)**

Isolation and characterization of proteolytic ruminal bacteria from sheep and goats fed the tannin-containing shrub-legume *Calliandra calothyrsus*,  
*Appl. Environm. Microbiol.* 65, 3075-3083

**MENKE, K.H. UND H. STEINGAB (1987)**

Schätzung des energetischen Futterwertes aus der in vitro mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse, 2. Regressionsgleichungen,  
*Übers. Tierernährg.* 15, 59-94

**MILLER, T.L. UND M.J. WOLIN (1973)**

Formation of hydrogen and formate by *Ruminococcus albus*, *J. Bacteriol.* 116, 836-846

**MILLER, T.J. (1995)**

Ecology of methane production and hydrogen sinks in the rumen, in: *Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction*, Proceedings of the 8th international symposium on ruminant physiology, Ferdinand Enke Verlag

**MIURA, H., M. HORIGUCHI UND T. MATSUMOTO (1980)**

Nutritional interdependence among rumen bacteria *Bacteroides amylophilus*,  
*Megasphaera elsdenii* and *Ruminococcus albus*, *Appl. Environm. Microbiol.* 40, 194-300

**MORRIS, E.J. UND N.O. VAN GYLSWYK (1980)**

Comparison of the action of rumen bacteria on cell walls from *Eragrostis tef*,  
*J. Agric. Sci. (Camb)* 95, 313-323

**MORRISON, M. UND R.I. MACKIE (1996)**

Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives, *Aust. J. Agric. Res.* 47, 227-246

**MOUNTFORT, D.G. (1987)**

The rumen anaerobic fungi, *FEMS Microbiol. Rev.* 46, 401-408

**MURRAY, P.A. UND S. H. ZINDLER (1984)**

Nitrogen fixation by a methanogenic archaeobacterium, *Nature* 312, 284-286

**NAGA, M.A. UND K. EL SHAZLY (1968)**

The metabolic characterization of the ciliate protozoon *Eudiplodinium medium* from the rumen of buffalo, *J. Gen. Microbiol.* 53, 305-315

**NEWBOLD, C.J., N. MC KAIN UND R.J. WALLACE (1989)**

The role of protozoa in ruminal peptide metabolism, in: Biochemistry and molecular biology of anaerobic protozoa, Hrsg.: D. Lloyd, G.H. Coombs und T.A. Paget, Harwood Academic Publishers, Chur

**NEWBOLD, C.J., B. LASSALAS UND J. P. JOUANY (1995)**

The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production in vitro, Lett. Appl. Microbiol. 21, 230-234

**NUGENT, J.H.A. UND J.L. MANGAN (1981)**

Characteristics of the rumen proteolysis of protein 1 (18S) leaf protein from lucerne (*Medicago sativa*, L.), Br. J. Nutr. 46 39-58

**ONODERA, R. UND M. KANDATSU (1974)**

Formation of lysine from diaminopimelic acid and negligible synthesis of lysine from other precursors by rumen ciliate protozoa, Agric. Biol. Chem. 38, 913-920

**ONODERA, R., T. NAKAGAWA UND M. KANDATSU (1977)**

Ureolytic activity of the washed cell suspension of rumen ciliate protozoa, Agric. Biol. Chem. 41, 2177-2182

**ONODERA, R., Y. YAMAGUCHI UND S. MORIMOTO (1983)**

Metabolism of arginine, citrulin, ornithin and proline by starved rumen ciliate protozoa, J. Protozool. 32, 326-330

**OP DEN CAMP, H.J.M., R. DIJKERMAN, M.J. TEUNISSEN UND C. VAN DER DRIFT (1994)**

Production of depolymerizing enzymes by anaerobic fungi, in: Micro-Organisms in Ruminant Nutrition, Hrsg.: R.A. Prins und C.S. Stewart Nottingham University Press

**OPPERMANN, R.A., W.O. NELSON UND R.E. BROWN (1957)**

In vitro studies of methanogenic rumen bacteria, J. Dairy Sci. 40, 779-788

**ORPIN, C.G. (1981)**

Degradation of plant cell-wall material, in: Agriculture Science Seminar, Agr. Res. Council, London

**ORPIN, C.G. (1983/84)**

The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls, Anim. Feed Sci. Technol. 10, 121-143

**ORPIN, C.G. UND A.J. LETCHER (1979)**

Utilization of cellulose, starch, xylan and other hemicelluloses for growth by the rumen phycomycete *Neocallimastix frontalis*, Curr. Microbiol. 3, 121-124

**ORPIN, C.G. UND Y. GREENWOOD (1986)**

Nutrition and germination requirements of the rumen phycomycete *Neocallimastix patriciarum*, Trans. Br. Mycol. Soc. 86, 103-109

**ORPIN, C.G. UND E.A. MUNN (1986)**

*Neocallimastix patriciarum* sp. nov., a new member of the Neocallimasticaceae in habitating the rumen of sheep, Trans. Br. Mycol. Soc. 86, 178-181

**ØRSKOV, E.R. UND M. RYLE (1990)** Energy nutrition in ruminants,

Elsevier Science Publishers LTD

**OXFORD, A.E. (1951)**

The conversion of certain soluble sugars to a glucosan by holotrich ciliates in the rumen of sheep, J. Gen. Microbiol. 5, 83-90

**OXFORD, A.E. (1958)**

Bloat in cattle, IX. Some observations on the culture of the cattle rumen ciliate *Epidinium ecaudatum* crawley occurring in quantity in cows fed on red clover (*Trifolium pratense* L.), N. Z. J. Agric. Res. 1, 809-824

**PASTER, B.J., J.B. RUSSELL, C.M.J. YANG, C.R. WOESE UND R. TANNER (1993)**

Phylogeny of the ammonia-producing ruminal bacteria *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii* an *Clostridium aminophilum* sp. nov,

- edition, Volume 3, Academic Press New York  
Intern. J. Syst. Bacteriol. 43, 107-110
- PATTERSON, J.A. UND R.B. HESPELL (1979)**  
Trimethylamine and methylamine as growth substrates for rumen bacteria and  
Methanosarcina barkeri, Curr. Microbiol. 50, 212-219
- PAYNTER, M.J.B. UND R.E. HUNGATE (1968)**  
Characterization of Methanobacterium mobilis sp.nov., isolated from the bovine rumen,  
J. Bacteriol. 95, 1943-1951
- PETTIPHER, G.L.UND M.J. LATHAM (1979A)**  
Characteristics of enzymes produced by Ruminococcus flavefaciens, which degrade plant  
cell walls, J. Gen. Microbiol, 110, 21-27
- PETTIPHER, G.L.UND M.J. LATHAM (1979B)**  
Production of enzymes degrading plant cell walls and fermentation of cellobiose by  
Ruminococcus flavefaciens in batch and continuous culture,  
J. Gen. Microbiol, 110, 29-38
- PITTMAN, K.A. UND M. P. BRYANT (1964)**  
Peptides and other nitrogen sources for growth of Bacteroides ruminicola,  
J. Bacteriol. 93, 401
- PITTMAN, K.A., S. LAKSHMANAN UND M. P. BRYANT (1967)**  
Oligopeptide uptake by Bacteroides ruminicola, J. Bacteriol. 88, 1499-1508
- PHILIPS, M.W. UND G.L.R. GORDON (1988)**  
Sugar and polysaccharide fermentation by rumen anaerobic fungi from Australia,  
Britain and New Zealand Biosystems, 21, 377-383
- PRESCOTT, J.M., W.T. WILLIAMS UND R.S. RAGLAND (1959)**  
Influence of nitrogen source on growth of streptococcus bovis,  
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 102, 490
- PRINS, R.A. (1977)**  
Biochemical activities of gut microorganisms, in: Microbial Ecology of the gut,  
Hrsg.: R.T.J. Clarke und T. Bauchop, Academic Press, London
- PRINS, R.A. UND R. VAN HOVEN (1977)**  
Carbohydrate fermentation by the rumen ciliate Isotricha prostoma,  
Protistologica 13, 549-556
- PRINS, R.A. UND R.T.J. CLARKE (1980)**  
Microbial ecology in the rumen, in: Digestive physiology and metabolism in ruminants,  
Hrsg.: Y. Ruckebusch, P. Thivend, Falcon House , MTP Press
- RAO, Z.P. UND K.V. THOMSEN (1984)**  
In vitro study on the utilization of various carbohydrates by rumen microbes using  
different nitrogen sources, Ind. J. Dairy Sci., 37, 321-325
- ROBINSON, I. UND M. J. ALLISON (1969)**  
Isoleucine biosynthesis from 2-methylbutyric acid by anaerobic bacteria from the  
rumen, J. Bacteriol. 97, 1220-1226
- ROWE, J.B., M. L. LOUGHNAN, J.V. NOLAN UND R.A. LENG (1979)**  
Secondary fermentation in the rumen of sheep given diet based on molasses,  
Br. J. Nutr. 41, 393-397
- RUSSELL, J.B. (1984)**  
Factors influencing competition and composition of the rumen bacterial flora, in:  
Herbivore nutrition in the subtropics and tropics, Hrsg.: F.M.C. Gilchrist,  
Craighall, RSA Science Press
- RUSSELL, J.B. (1998)**  
Strategies that ruminal bacteria use to handle excess carbohydrate,  
J. Anim. Sci. 76, 1955-1963.

- RUSSELL, J.B. UND R.B. HESPELL (1981)**  
Microbial rumen fermentation, *J. Dairy Sci.* 64, 1153-1169
- RUSSELL, J.B. UND P.H. ROBINSON (1984)**  
Composition and characteristics of strains of *Streptococcus bovis*,  
*J. Dairy Sci.* 67, 1525-1531
- RUSSELL, J.B. UND C.J. SNIFFEN (1984)**  
Effect of Carbon-4 and Carbon-5 volatile fatty acids on growth of mixed rumen bacteria  
in vitro, *J. Dairy Sci.* 67, 987-994
- RUSSELL, J.B., W.G. BOTTJE UND M.A. COTTA (1981)**  
Degradation of protein by mixed cultures of rumen bacteria: identification of  
*Streptococcus bovis* as an actively proteolytic rumen bacterium,  
*J. Anim. Sci.* 53, 242-252
- RUSSELL, J.B., H.J. STROBEL UND G. CHEN (1988)**  
Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of  
ammonia production, *Appl. Environm. Microbiol.* 54, 872-877
- SAKURADA, M., D.P. MORGAVI, Y. TOMITA UND R. ONODERA (1994)**  
Ureolytic activity of anaerobic rumen fungi, *Piromyces* sp. OTS3 and *Neocallimastix*  
sp. OTS4, *Anim. Sci. Techn.* 65, 950-955
- SATTER, L.D., UND L.L. SLYTER (1974)**  
Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro,  
*Br. J. Nutr.* 32, 199-208
- SCHEIFINGER, C.C. UND M.J. WOLIN (1973)**  
Propionate formation from cellulose and soluble sugars by combined cultures of  
*Bacteroides succinogenes* and *Selenomonas ruminantium*,  
*Appl. Microbiol.* 26, 789-795
- SCHERER, P. UND H. SAHM (1981)**  
Influence of sulfur-containing compounds on the growth of *Methanosarcina barkeri* in a  
defined medium, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 12, 28-35
- SCHWAB, C.G., P. HUHTANEN, C.W. HUNT UND T. HVELPLUND (2005)**  
Nitrogen requirements of cattle, in: Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle,  
Hrsg.: E. Pfeffer und A.N. Hristov, CAB International
- SHARP, R., C.J. ZIEMER, M.D. STERN UND D.A. STAHL (1998)**  
Taxon-specific associations between protozoal and methanogen populations in the rumen  
and a model rumen system, *FEMS Microbiol. Ecol.* 26, 71-78
- SINCLAIR, L.A., P.C. GARNSWORTHY, P. BEARDSWORTH, P. FREEMAN UND P.J. BUTTERY  
(1991)**  
The use of cytosine as a marker to estimate microbial protein synthesis in the rumen,  
*Anim. Prod.* 52, 592
- SMITH, P. H. UND R.E. HUNGATE (1958)**  
Isolation and characterization of *Methanobacterium ruminantium* n.sp.,  
*J. Bacteriol.* 75, 713-718
- SOLIVA, C.R., I.K. HINDRICHSEN, L. MEILE, M. KREUZER UND A. MACHMÜLLER (2003)**  
Effects of mixtures of lauric and myristic acid on rumen methanogens in vitro,  
*Lett. Appl. Microbiol.* 37, 35-39
- SOLIVA, C.R., L. MEILE, A. CIESLAK, M. KREUZER UND A. MACHMÜLLER (2004)**  
Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid  
supplementation in suppressing ruminal methanogenesis, *Br. J. Nutr.* 92, 689-700
- SOWERS, K.R. (2000)**  
Methanogenesis, in: *Encyclopedia of Microbiology*, Hrsg.: J. Lederberg, Second

**STADTMAN, T.C. UND H.A. BARKER (1951)**

Studies on the methane fermentation, IX. The origin of methane in the acetate and methanol fermentation by *Methanosarcina*, *J. Bacteriol.* 61, 81-86

**STEINGAß, H. (1983)**

Bestimmung des energetischen Futterwertes von wirtschaftseigenen Futtermitteln aus der Gasbildung bei der Pansenfermentation *in vitro*, Dissertation Institut für Tierernährung, Universität Hohenheim

**STEINGAß, H. UND K.-H. MENKE (1986)**

Schätzung des energetischen Futterwertes aus der *in vitro* mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse, I. Untersuchungen zur Methode, Übers. Tierernährg. 14, 251-270

**STERN, M.D. UND W.H. HOOVER (1979)**

Methods for determining and factors affecting rumen microbial synthesis: A review, *J. Anim. Sci.* 49, 1590-1603

**STEWART, C.S. UND M.P. BRYANT (1988)**

The rumen bacteria, in: *Anaerobic bacteria in habitats other than man*, Hrsg.: P.N. Hobson, Blackwell Scientific Publications, Palo Alto CA

**STEWART, C. S., H.J. FLINT UND M.P. BRYANT (1997)**

The rumen bacteria, in: *The rumen microbial ecosystem*, Hrsg.: P.N. Hobson und C.S. Stewart, Chapman & Hall

**STUMM, C.K., H.J. GIJZEN UND G.D. VOGELS (1982)**

Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates, *Br. J. Nutr.* 47, 95-99

**STUMM, C.K. UND K.B. ZWART (1986)**

Symbiosis of protozoa with hydrogen-utilizing methanogens, *Microbiol. Sci.* 3, 100-105

**SUGDEN, B. UND A.E. OXFORD (1952)**

Some cultural studies with holotrich ciliate protozoa from the sheep's rumen, *J. Gen. Microbiol.* 7, 145-153

**TANNER, R.S. UND R.S. WOLFE (1988)**

Nutritional requirements of *Methanomicrobium mobile*, *Appl. Environm. Microbiol.* 54, 625-628

**TAYLOR, C.D., B.C. MC BRIDE, R.S. WOLFE UND M.P. BRYANT (1974)**

Coenzyme M, essential for growth of a rumen strain of *Methanobacterium ruminantium*, *J. Bacteriol.* 120, 974-975

**THEODOROU, M.K., D.R. DAVIES UND C.G. ORPIN (1994)**

Nutrition and survival of anaerobic fungi, in: *Anaerobic fungi: Biology, ecology and function*, Hrsg.: D.O. Mountfort und C.G. Orpin, Marcel Dekker, New York

**THOMSEN, K.V. (1985)**

The specific nitrogen requirements of rumen microorganisms, *Acta Agric. Scand. Suppl.* 25, 125-131

**TOKURA, M., K. USHIDA, K. MIYAZAKI UND Y. KOJIMA (1997)**

Methanogens associated with rumen ciliates, *FEMS Microbiol.* 22, 137-143

**TRINCI, A.P.J., D.R. DAVIES, K. GULL, M.I. LAWRENCE, B. BONDE NIELSEN, A. RICKERS UND M.K. THEODOROU (1994)**

Anaerobic fungi in herbivorous animals, *Mycol. Res.* 98, 129-152

**ULBRICH, M., M. HOFFMANN UND W. DROCHNER (2004)**

Fütterung und Tiergesundheit, Verlag Eugen Ulmer

**USHIDA, K. UND J.P. JOUANY (1996)**

Methane production associated with rumen-ciliated protozoa and its effect on protozoan activity, *Lett. Appl. Microbiol.* 23, 129-132

**USHIDA, K., M. TOKURA, A. TAKENAKA UND H. ITABASHI (1997)**

Ciliate protozoa and ruminal methanogenesis, in: Rumen microbes and digestive physiology in ruminants, Hrsg.: R. Onodera, H. Itabashi, K. Ushida, H. Yano und Y. Sasaki, Japan Sci. Soc. Press Tokyo/S. Karger, Basel

**VAN GYLSWYK, N.O. (1970)**

The effect of supplementing a low protein hay on cellulolytic bacteria in the rumen of sheep on the digestibility of cellulose and hemicelluloses, *J. Agric. Sci. Camb.* 74, 169

**VAN GYLSWYK, N.O. (1990)**

Enumeration and presumptive identification of some functional groups of bacteria in the rumen of dairy cows fed grass silage-based diets, *FEMS Microbiol. Ecology* 73, 243-254

**VAN HOVEN, W. UND R.A. PRINS (1977)**

Carbohydrate fermentation by the rumen ciliate *Dasytricha ruminantium*, *Protistologica* 13, 599-606

**VETRIANI, C. UND A.-L. REYSENBACH (2000)**

Archaea, in: *Encyclopedia of Microbiology*, Hrsg.: J. Lederberg, Second Edition Volume 1, Academic Press New York

**VDLUFA (1976) INKLUSIVE ERGÄNZUNGLIEFERUNGEN 1983, 1988, 1993, 1997**

Methodenbuch Band III – Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, VDLUFA Verlag Darmstadt

**VICINI, J.L., W. J. BRULLA, C.L. DAVIS UND M.P. BRYANT (1987)**

Quin's oval and other microbiota in the rumen of molasses-fed sheep, *Appl. Environm. Microbiol.* 47, 219-221

**VIRTANEN, A. I. (1966)**

Milk production of cows on protein-free feed, *Science* 153, 1603-1614

**VOGELS, G.D., W.F.HOPPE UND C.K. STUMM (1980)**

Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates, *Appl. Environm. Microbiol.* 40, 608-612

**WALLACE, R.J. (1996)**

Rumen microbial metabolism of peptides and amino acids, *J. Nutr.* 126, 1326S-1334S

**WALLACE, R.J. UND M.L. BRAMMAL (1985)**

The role of different species of bacteria in the hydrolysis of protein in the rumen, *J. Gen. Microbiol.* 131, 821-832

**WALLACE, R.J. UND K.N. JOBLIN (1985)**

Proteolytic activity of a rumen anaerobic fungus, *FEMS Microbiol. Lett.* 29, 19-25

**WALLACE, R.J. UND C.A. MCPHERSON (1987)**

Factors affecting the rate of breakdown of bacterial protein in rumen fluid, *Br. J. Nutr.* 58, 313-323

**WALLACE, R.J. UND N. MCKAIN (1991)**

A survey of peptidase activity in rumen bacteria, *J. Gen. Microbiol.* 137, 2259-2264

**WALLACE, R.J., N. MCKAIN UND C.J. NEWBOLD (1990)**

Metabolism of small peptides in rumen fluid. Accumulation of intermediates during hydrolysis of alanine oligomers, and comparison of peptidolytic activities of bacteria and protozoa, *J. Science Food Agric.* 50, 191-199

**WALLACE, R.J., P.P. FRUMHOLTZ UND N.D. WALKER (1993)**

Breakdown of N-terminally modified peptides and an isopeptide by rumen microorganisms, *Appl. Environm. Microbiol.* 59, 3147-3149

**WALLACE, R.J., R. ONODERA UND M.A. COTTA (1997)**

Metabolism of nitrogen-containing compounds, in: *The rumen microbial ecosystem*, Hrsg.: P.N. Hobson und C.S. Stewart, Chapman und Hall

**WALLIS, O.C. UND G.S. COLEMAN (1967)**

Incorporation of <sup>14</sup>C-labelled components of *Escherichia coli* and of amino acids by *Isotricha intestinalis* and *Isotricha prostoma* from the sheep rumen, *J. Gen. Microbiol.* 49, 315-323

**WEBB, E.C. (1992)**

Enzyme Nomenclature 1992, Academic Press, London

**WEBB, B.J. UND M.K. THEODOROU (1988):**

A rumen anaerobic fungus of the genus *Neocallimastix*: ultrastructure of the polyflagellate zoospore and young thallus, *Biosystems* 21, 393 - 401

**WEIMER, P.J. (1996)**

Why don't ruminal bacteria digest cellulose faster? *J. Dairy Sci.* 79, 1496-1502

**WEIMER, P.J. UND J.G. ZEIKUS (1978)**

One-carbon metabolism in methanogenic bacteria, *Arch. Microbiol.* 119, 49-57

**WELLINGER, A. UND K. WUHRMANN (1977)**

Influence of sulfide compounds on the metabolism of *Methanobacterium* strain AZ, *Arch. Microbiol.* 115, 13-17

**WHITE, R.H. (1969)**

Viable bacteria inside the rumen ciliate *Entodinium caudatum*, *J. Gen. Microbiol.* 56, 403-408

**WHITMAN, W.B. (1985)**

Methanogenic bacteria, in: *The bacteria*, Hrsg.: C.R. Woese und R.S. Wolfe, Vol.8 Academic Press New York

**WHITMAN, W.B., S.-H. SOHN, S.-U. KUK UND R.-Y. XING (1987)**

Role of amino acids and vitamins in nutrition of mesophilic *Methanococcus* spp., *Appl. Environm. Microbiol.* 53, 2373-2378

**WILLIAMS, A.G. (1979)**

The selectivity of carbohydrate assimilation in the anaerobic rumen ciliate *Dasytricha ruminantium*, *J. Appl. Bact.* 47, 511-520

**WILLIAMS, A.G. UND C.G. HARFOOT (1976)**

Factors affecting the uptake and metabolism of soluble carbohydrates by the rumen ciliate *Dasytricha ruminantium* isolated from ovine rumen contents by filtration, *J. Gen. Microbiol.*, 96, 125-136

**WILLIAMS, A.G. UND I.M. MORRISON (1982)**

Studies on the production of saccharinic acids by the alkaline treatment of young grass and their effectiveness as substrates for mixed rumen microorganisms in vitro, *J. Sci. Food. Agric.* 33, 21-29

**WILLIAMS, A.G. UND G.S. COLEMAN (1992)**

The rumen protozoa, Springer Verlag New York

**WILLIAMS, A.G. UND G.S. COLEMAN (1997)**

The rumen protozoa, in: *The rumen microbial ecosystem*. Hrsg.: P.N. Hobson und C.S. Stewart, Chapman und Hall

**WILLIAMS, A.G., S.E. WITHERS UND G.S. COLEMAN (1984)**

Glycoside hydrolases of rumen bacteria and protozoa, *Curr. Microbiol.* 10, 287-294

**WOLIN, M.J. (1974)**

Metabolic interactions among intestinal microorganisms, *Am. J. Clin. Nutr.* 27, 1320-1328

**WOLIN, M.J., G.B. MANNING UND W.O. NELSON (1959)**

Ammonium salts as a sole source of nitrogen for the growth of *Streptococcus bovis*, *J. Bacteriol.* 78, 147-149

**WOLIN, M.J. UND T.L. MILLER (1987)**

Bioconversion of organic carbon to methane and CO<sub>2</sub>, *Geomicrobiol. J.* 5, 239-259

**WOLIN, M.J. , T.L. MILLER UND C.S. STEWART (1997)**

Microbe-microbe interactions, in: The rumen microbial ecosystem, Hrsg.: P.N. Hobson und C.S. Stewart, Chapman und Hall

**YARLETT, N., C.G. ORPIN, E.A. MUNN, N.C. YARLETT UND C.A. GREENWOOD (1986)**

Hydrogenosomes in the rumen fungus *Neocallimastix patriciarum*,  
Biochem. J. 236, 729-739

**YOKOYAMA, M.T. UND K.A. JOHNSON (1988)**

Microbiology of the rumen and the intestine, in: The ruminant animal, digestive physiology and nutrition, Hrsg.: D.C. Church, Prentice-Hall

**ZIOLECKI, A. (1979)**

Isolation and characterization of large treponemes from the bovine rumen,  
Appl. Environm. Microbiol. 37, 131-135

**ZIOLECKI, A. UND M. WOJCIECHOWICZ (1980)**

Small pectinolytic spirochetes from the rumen,  
Appl. Environm. Microbiol. 39, 919-922



---

# Kapitel 3

---

EFFEKTE SYNCHRONER BZW. ASYNCHRONER  
RATIONSGESTALTUNG  
AUF DEN N- UND ENERGIEUMSATZ  
SOWIE DIE METHANPRODUKTION  
BEI WACHSENDEN LÄMMERN

### 3.1 Literaturübersicht

#### 3.1.1 Protein- und N-Umsatz im Pansen

Der Protein- und N-Umsatz im Pansen besteht primär aus zwei Kernprozessen:

Einerseits werden die Futterproteine durch mikrobielle Proteasen in unterschiedlichem Umfang hydrolysiert. Die Proteine werden zuerst in Peptide, diese wiederum in AS gespalten. Im Weiteren werden die AS größtenteils in  $\text{NH}_3$ , FFS und  $\text{CO}_2$  gespalten. Auch die meisten NPN-Verbindungen unterliegen dem mikrobiellen Abbau zu  $\text{NH}_3$  (siehe Kapitel 2).

Andererseits erfolgt im Pansen gleichzeitig durch Bakterien und Protozoen die Synthese mikrobieller AS und Proteine, die bei Passage in das Labmagen-Dünndarm-Segment zur AS-Versorgung des Wirtstieres beitragen (JEROCH ET AL., 2008).

In diesem Kapitel sollen nun verschiedene Aspekte der mikrobiellen Proteinsynthese behandelt werden.

##### 3.1.1.1 Die mikrobielle Proteinsynthese

Das am Duodenum angeflutete Protein leistet mit einem nXP-Anteil von 60 bis 80 % den größten Beitrag zur Proteinversorgung des Wiederkäuers (NRC, 1985).

Diese mikrobielle Proteinmenge steht in Beziehung zur im Pansen verdauten OM (oder zum ATP-Ertrag) und zur Effizienz, mit der die Mikroben die OM (oder das ATP) in Wachstum umsetzen (OWENS UND GOETSCH, 1988). Innerhalb der fermentierten OM leisten Rohfett und Rohprotein nur einen untergeordneten Beitrag zur mikrobiellen Proteinsynthese (HVELPLUND UND MADSEN, 1985) und nach HARSTAD UND VIKMO (1985) besteht eine engere Beziehung zwischen im Pansen verdauten CHO ( $R^2 = 0,98$ ) als zur im Pansen verdauten OM ( $R^2 = 0,91$ ), weshalb der mikrobielle Ertrag oftmals auch auf die im Pansen verdauten CHO bezogen wird.

Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese ist die Menge des mikrobiellen N pro Einheit umgesetzten Substrats. Sie wird entweder als mikrobieller Proteinertrag pro mol ATP ( $Y_{\text{ATP}}$ ) ausgewiesen, wobei hierbei die Menge an produziertem ATP je Mol fermentierten Substrats bekannt sein muss, da die Energieausbeute substratabhängig ist (BLANK et al., 1998) oder als mikrobieller Proteinertrag pro 100 g oder (kg) scheinbar oder wahr im Pansen fermentierter OM (OWENS UND GOETSCH, 1988). Nach STERN u. HOOVER (1979) differiert die Effizienz, basierend auf 64 Einzelwerten, weit zwischen 63-307 g MP/kg DOM mit einem Mittel von  $169 \text{ g} \pm 62 \text{ g}$ . Etwas geringer fällt der aus 335 Einzelbeobachtungen kalkulierte Mittelwert von  $156 \text{ g MP} \pm 24 \text{ g je kg DOM}$  ( $162 \text{ g} \pm 26 \text{ g MP je kg fettfreie DOM}$ ) aus, was einer mittleren mikrobiellen Proteinsynthese von  $10,1 \pm 1,5 \text{ g MP je MJ ME}$  entspricht (GfE, 2001).

### 3.1.1.2 Einflussfaktoren auf die mikrobielle Proteinsynthese

#### Energieversorgung

Die mikrobielle Proteinsynthese steht in enger Beziehung zur Menge an aufgenommener Energie (CLARK ET AL., 1992). Die Pansenmikroorganismen beziehen die für die mikrobielle Proteinsynthese benötigte Energie in Form von ATP hauptsächlich aus der Fermentation von CHO (HUNGATE, 1966), nur etwa 10 % der Futterproteine werden in Form von AS bei Energiemangel zur Energiegewinnung herangezogen (HAGEMEISTER UND KAUFMANN, 1974), da die Fermentation von Protein im Vergleich zu CHO lediglich die Hälfte der Energie pro Einheit fermentierten Substrates liefert (TAMMINGA, 1982).

Der in der Futterration eingesetzte CHO-Typ beeinflusst ebenfalls die mikrobielle Syntheseleistung. In verschiedenen Studien von RODE ET AL. (1985) und HVELPLUND UND MADSEN (1985) wiesen kraftfutterbetonte Rationen eine niedrigere Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese auf als grundfutterreiche. Denn zunehmende Anteile von Nicht-Struktur-CHO in der Futterration bewirken oftmals ein Absinken des pH-Wertes im Pansen, wodurch aufgrund der Sensitivität der Mikroben, insbesondere der Cellulolyten, die Faserverdauung herabgesetzt wird (HOOVER, 1986) und eine Verringerung des mikrobiellen Zellertrags (RUSSELL UND DOMBROWSKI, 1980) und eine verminderte Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese die Folge sein kann (RUSSELL ET AL., 1992; FIRKINS, 1996). Für eine Aufrechterhaltung eines neutralen pH-Werts im Zellinnern kommt es zur Akkumulierung von Anionen, welche nach RUSSELL UND WILSON (1996), für die Wachstumsdepression verantwortlich ist. Bei einer grundfutterbetonten Ration kann es wiederum zu einem Anstieg des Anteils an cellulolytischen Bakterien kommen, die einen geringeren Erhaltungsbedarf als amylolytische besitzen und somit die Effizienz der mikrobiellen Synthese zu verbessern vermögen (RUSSELL ET AL., 1992).

#### N-Versorgung

Für ein optimales mikrobielles Wachstum ist eine adäquate N-Versorgung über die N-Quellen abbaubares Protein, Futter-NPN-Verbindungen und rezyklierter N via ruminohepatischem Kreislauf die Voraussetzung, da nach RUSSELL ET AL. (1992) ein ruminales N-Defizit den bakteriellen Proteinertrag negativ beeinflusst.

Die optimale  $\text{NH}_3$ -Konzentration im Pansen für eine Maximierung der mikrobiellen Proteinsynthese wird in der Literatur uneinheitlich angegeben. Nach SATTER UND SLYTER (1974) führen Pansen  $\text{NH}_3$ -Level in vitro von über 5 mg/dl nicht zu einer höheren mikrobiellen Proteinsynthese. Auch ALLISON (1970) und NIKOLIC ET AL. (1975) geben 5-8 mg  $\text{NH}_3$ /dl als

## Kapitel 3

---

Optimum an, was *in vivo* von OKORIE ET AL. (1977) mit 5 mg/dl und HUME ET AL. (1970) mit 9 mg/dl bestätigt wird. Dagegen beziffern MILLER (1973) die optimale  $\text{NH}_3$ -Konzentration auf 29 mg  $\text{NH}_3$ /dl und MEHREZ ET AL. (1977) *in situ* auf 24 mg/dl.

SCHWAB ET AL. (2005) lehnen eine fixe optimale  $\text{NH}_3$ -Konzentration ab, da diese jeweils von der Futterration, dem Typ der N-Supplemente, der CHO-Fermentierbarkeit sowie unter Umständen von der Passagerate der Pansendigesta abhängig ist.

Der Mindest-XP-Gehalt der Ration bei Schafen für ein maximales mikrobielles Wachstum beträgt nach HUME ET AL. (1970) etwa 11 %. Rinder benötigen für ein maximales mikrobielles Wachstum einen um 2 % höheren Rations-XP-Gehalt als Schafe (SATTER UND ROFFLER, 1975), Diese XP-Gehalte sind nach Ansicht oben genannter Autoren ebenfalls nicht als absolut zu betrachten, da sie an der Menge von abbaubarem N und fermentierbarer Energie ausgerichtet werden müssen. So sind nach CZERKAWSKI (1986) für eine optimale mikrobielle Proteinsynthese 25 g N/kg im Pansen fermentierter organischer Masse bzw. 32 g N/kg im Pansen fermentierter Kohlenhydrate nötig (SINCLAIR et al., 1993).

Wie bereits in Kapitel 2 dargestellt, können Wiederkäuer mit Ammoniak als alleiniger N-Quelle auskommen. Jedoch zeigen einige Untersuchungen eine Steigerung des mikrobiellen Ertrags durch Austausch von Harnstoff durch Aminosäuren und Peptide auch wenn  $\text{NH}_3$  und CHO im Überschuss vorhanden sind (MAENG UND BALDWIN, 1976; HUME, 1970; COTTA UND RUSSELL, 1982; GRISWOLD ET AL., 1996).

Nicht zur mikrobiellen Proteinsynthese verwendetes Ammoniak wird über die Pansenwand absorbiert und gelangt durch die Pfortader in die Leber, wo es in Harnstoff umgewandelt wird. Bei niedrigem Rations-XP-Gehalt ist der Wiederkäuer in der Lage, die Ausscheidung des Harnstoffs mit dem Harn einzuschränken. So gelangt ein Teil des Harnstoffs über den Speichel oder die Pansenwand wieder in den Pansen zurück. Der Harnstoff wird dann durch mikrobielle Ureasen gespalten und steht den Mikroben erneut als N-Quelle zur Verfügung (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2000). Nach GfE (2001) können die Pansenmikroben bis zu 20 % ihres N-Bedarfs über diesen sogenannten rumenohepatischen Kreislauf decken.

### 3.1.1.3 Abbaueigenschaften der N- und CHO-Quellen

Bereits STERN UND HOOVER (1979) bezeichneten das Ausmaß und die Geschwindigkeit des ruminalen Abbaus als bestimmende Faktoren für die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese.

#### 3.1.1.3.1 Proteinabbau

Die ruminale Proteinabbaubarkeit von Futtermitteln differiert weit. Die Geschwindigkeit des Proteinabbaus im Pansen ist von der physikalischen Struktur und der Löslichkeit der Futterproteine abhängig. Die Zugänglichkeit der Proteinoberfläche für mikrobielle Proteasen und Peptidasen kann durch Lipide oder wasserunlösliche Substanzen erschwert sein (NOLAN UND DOBOS, 2005). Die Tertiärstruktur des Proteins sowie die Anzahl stabilisierender Disulfidbrücken innerhalb einzelner Polypeptidketten oder als Verbindung zwischen zwei Polypeptidketten scheint in enger Beziehung mit einer niedrigen Abbaurrate zu stehen (NUGENT UND MANGAN, 1978; NUGENT ET AL., 1983; MAHADEVAN ET AL., 1980).

Bei der Proteinabbaubarkeit von Futtermitteln handelt es sich um keinen fixen Abbaubarkeitskoeffizienten, da dieser von der Verweildauer des Futters im Pansen beeinflusst wird (NOLAN UND DOBOS, 2005). Eine kürzere Verweildauer der Proteine im Pansen ist generell mit einem Rückgang der Proteinabbaubarkeit verbunden, wobei die Reduktion stärker ausfällt bei weniger löslichen, langsam abbaubaren Fraktionen (JOUANY, 1996).

Parameter der Abbaubarkeit und Abbaugeschwindigkeit verschiedener Futtermittel sind in Tabelle 18 dargestellt.

Tabelle 18: In situ Abbaukinetik des Proteinabbaus in verschiedenen Futtermitteln (bei einer Passagerate von 6 %/h)

Futtermittel	a (%)	b (%)	c (%/h)	Effektive Abbaubarkeit (%)
Gerste	29	65	11,0	71
Hafer	63	29	10,0	81
Weizen	27	67	16,0	76
Mais	11	82	4,0	43
Sorghum	5	73	5,5	39
Erbsen	67	29	11,5	86
Ackerbohne	56	40	11,5	83
Maiskleber	3	83	2,5	29
Weizenkleie	35	54	16,5	75

a = sofort lösliche Fraktion, b = potentiell abbaubare Fraktion, c = Abbaurrate

Quelle: INRA, 2004

### 3.1.1.3.2 CHO-Abbau

Die Gruppierung der Struktur-CHO wird im Pansen erheblich langsamer abgebaut als die der Nicht-Struktur-CHO. Erstere weist innerhalb ihrer Gruppe zusätzlich eine höhere Variabilität auf (SAUVANT UND VAN MILGEN, 1995).

Tabelle 19: In situ Abbaukinetik des Stärkeabbaus in verschiedenen Futtermitteln (bei einer Passagerate von 6 %/h)

Futtermittel	a (%)	b (%)	c (%/h)	Effektive Abbaubarkeit (%)
Gerste	52	48	20,5	89
Hafer	67	33	21,5	93
Weizen	58	42	39,0	94
Mais	23	77	5,5	60
Sorghum	28	72	5,0	60
Erbsen	46	54	9,5	79
Ackerbohne	37	63	9,0	75
Maiskleber	23	77	28,5	87
Weizenkleie	78	22	20,5	95

a = sofort lösliche Fraktion, b = potentiell abbaubare Fraktion, c = Abbaurrate

Quelle: INRA, 2004

Auch die Abbaubarkeit der Stärke in Kraftfuttermitteln differiert wie aus Tabelle 19 ersichtlich, zwischen 60 % bei Mais und Sorghum sowie bis zu 94 % bei heimischen Getreidearten. Beim Mais sorgt die Struktur des Maisproteins Zein sowie dessen Komplexbildung mit den Lipiden der Stärkegranula für eine niedrige Abbaubarkeit (STERN ET AL., 1997; CONE., 1991). Darüber hinaus kann die Abbaugeschwindigkeit der Stärke durch Behandlung mit feuchter und warmer Hitze oder chemischen Verfahren herabgesetzt werden (ROBINSON UND TAMMINGA, 1984; MC ALLISTER ET AL., 1990).

### 3.1.1.3.3 Passagerate

Eine vollständige Ausschöpfung des potentiell möglichen mikrobiellen Ertrages setzt theoretisch eine Passagerate voraus, die ähnlich zur Teilungsrate der Mikroben ist (ØRSKOV, 1992). Denn eine niedrigere Passagerate gegenüber der Teilungsrate steigert den Erhaltungsbedarf der Mikroben, wodurch weniger Substrat für den Aufbau der Zellmasse zur Verfügung steht und somit weniger Ertrag. Mikrobielle Erhaltungskosten umfassen nach HARMEYER (1986) die gesamte Energie sowie alle Nährstoffe, die für Motilität, Turnover der Zellbestandteile, Produktion extrazellulärer Enzyme, Proteine und CHO, aktiven Transport, ineffiziente Phosphorylierung sowie energetische Entkopplung aufgewendet werden müssen. ISAACSON ET

## Kapitel 3

---

AL. (1975) ermittelten einen Erhaltungsbedarf von 0,26 mmol Glucose pro g Bakterien/h, welcher in Abhängigkeit von der Wachstumsrate zwischen 10 und 30 % des gesamten Energieumsatzes betragen kann (RUSSELL UND STROBEL, 2005). Bei langsamen Wachstumsraten wird proportional mehr Erhaltungsenergie verbraucht als bei schnellen, dementsprechend geringer fallen die mikrobiellen Zellerträge bei langsamen Wachstumsraten aus (DEWHURST ET AL., 2000). So werden bei einer Passagerate von 2 %/h etwa 65 % des ATP für die Erhaltung aufgewendet, verglichen mit weitaus geringeren 32 % bei einer Passagerate von 6 %/h aufgrund einer geringeren Verweilzeit (OWENS UND GOETSCH, 1988). Das AFRC (1992) gibt eine mögliche Steigerung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese von 20 % an, wenn die Passagerate von 2 auf 8 %/h erhöht wird. Die Passagerate wiederum wird durch den Rationstyp, das Futteraufnahmeniveau (CLARK ET AL., 1992; VOLDEN 1999), die Tierspezies sowie durch die Umweltbedingungen beeinflusst (BALCH UND CAMPLING, 1965; CHURCH, 1969; STERN UND HOOVER, 1979). So wiesen Schafe bei Umgebungstemperaturen von 18-21°C eine geringere Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese mit 47,9 g N/kg DOM auf als bei Temperaturen knapp um den Gefrierpunkt mit 54,9 g N/kg DOM (KENNEDY ET AL., 1976).

### 3.1.2 Synchrone Rationsgestaltung als Strategie zur Verbesserung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese

#### 3.1.2.1 Das Prinzip des Synchronismus

Das Prinzip der synchronen Rationsgestaltung beruht auf einer möglichst gleichzeitigen Freisetzung von Energie und Stickstoff zu jeder Stunde im Tagesverlauf aus den Futtermitteln der Ration. Werden Futtermittel unter Berücksichtigung von Ausmaß und Geschwindigkeit des CHO-/XP-Abbaus gezielt miteinander kombiniert (synchronisiert), ist eine maximale Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese möglich (BLANK ET AL., 1998).

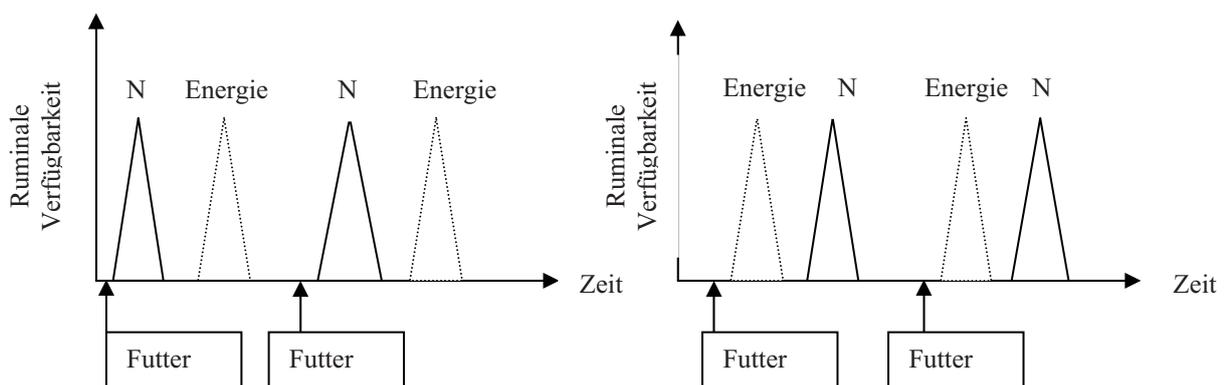
#### 3.1.2.2 Mögliche Auswirkungen asynchronen Nährstoffabbaus

Wenn die Abbauraten von N und CHO, wie stark vereinfacht dargestellt in Abb. 16, nicht aufeinander abgestimmt sind, kann dies, bedingt durch unterschiedliche Faktoren, zu einer verminderten Effizienz des mikrobiellen Wachstums, zu einem Rückgang der CHO-Verdaulichkeit, wie auch zu beträchtlichen Nährstoffverlusten führen (CHAMBERLAIN und CHOUNG, 2002; NOCEK UND RUSELL, 1988; RUSSELL et al., 1992).

1. Ist, wie in Beispiel 1, der N schneller im Pansen verfügbar als die Energie, werden zunächst große Ammoniakmengen angeflutet. Diese können aufgrund des Energiemangels nicht zur Synthese mikrobiellen Proteins genutzt werden. Stattdessen erfolgt die Absorption des Ammoniaks über die Pansenwand und nach Harnstoffbildung in der Leber die Ausscheidung mit dem Harn.

2. Steht, wie im Beispiel 2, Energie aus der CHO-Fermentation schneller als N zur Verfügung, bedeutet das N-Defizit eine Entkopplung von ATP-Produktion und mikrobieller Proteinsynthese, so dass die Fermentation weitgehend ohne mikrobielles Zellwachstum stattfindet.

Abbildung 16: Verläufe asynchroner Freisetzung von Energie und Protein (teilweise modifiziert nach CHAMBERLAIN UND CHOUNG 2002)



### 3.1.2.3 Vorgehensweisen zur Formulierung synchroner Futterrationen

Die Bestimmung des ruminalen Nährstoffabbaus in vivo mit Duodenalfistulierung eignet sich nicht für den Einsatz in der Routine. Als Alternativen stehen in situ und in vitro Verfahren zur Verfügung, die im Folgenden vorgestellt werden.

#### 3.1.2.3.1 In-situ Synchronisierung mit Synchronismusindex

Mit der In situ-Nylonbeuteltechnik kann die Abbaudynamik von, OM, N, und Gesamt-CHO nach der Methode von ØRSKOV UND MC DONALD (1979) über definierte Zeiträume ermittelt werden. Nach Einpassen der Daten in die Exponentialfunktion nach MC DONALD (1981) erhält man die für die Berechnung des Synchronismusindex nach SINCLAIR ET AL. (1993) erforderliche potentiell abbaubare Fraktion mit ihrer Abbaurate pro Stunde.

$$p = a + b (1 - e^{-c(t-L)}) \text{ für } t > L$$

p = Abbau des Nährstoffs zur Zeit t

L = Verzögerungsphase

a = lösliche Fraktion des Nährstoffs zur Zeit 0

b = potentiell im Pansen abbaubare Fraktion des Nährstoffs

c = Ratenkonstante des Abbaus von Fraktion b

t = Inkubationszeit

$$\text{Synchronismusindex} = \frac{25 - \sum_{1-24} \sqrt{(25 - N \text{ h}^{-1} / OM \text{ h}^{-1})^2}}{25}$$

In der Formel steht die Zahl 25 für 25 g N/kg wahr verdaute organische Masse (DOM), welche das optimale Verhältnis, bzw. die erforderliche N-Menge für eine optimale Effizienz der mikrobiellen Synthese nach CZERKAWSKI (1986) darstellt. Für die Berechnung des Synchronismusindex auf Basis der fermentierbaren CHO wird in der Gleichung die Zahl 25 (g N/kg DOM) durch die Zahl 32 (g N/kg ferm. CHO) ersetzt (SINCLAIR ET AL., 1991).

Eine vollkommene Synchronität zwischen Energie- und N-Freisetzung über den gesamten Tag hinweg ist bei einem Index von 1 gegeben. Je weiter der Index die Zahl 1 unterschreitet, desto stärker ausgeprägt ist die Asynchronität einer Ration (SINCLAIR ET AL., 1993).

### 3.1.2.3.2 In-vitro Synchronisierung mit Ruminaler N-Bilanz

Die ruminale N-Bilanz (RNB) ist ein Maß für die N-Versorgungslage im Pansen (GfE, 2001). Befindet sich diese im negativen Bereich, liegt eine N-Mangelsituation vor, die die mikrobielle Proteinsynthese beeinträchtigt. Ein positiver Wert ist mit einem N-Überschuss verbunden, welcher zunächst über die Leber im tierischen Organismus entgiftet werden muss, und schließlich über die Harnausscheidung zu höheren Ammoniakemissionen führt.

Bei einer ausgeglichenen RNB von Null befindet sich die N-Versorgung auf einem adäquaten Niveau für eine Maximierung der mikrobiellen Proteinsynthese, indem die Menge an ruminal verfügbarem N auf die Menge der aus der Futtermittelration erhaltenen verdaulichen organischen Substanz abgestimmt ist (DLG, 1998), welches dem Grundgedanken der Synchronisierung entspricht. Um die für die Synchronisierung per Definition geforderte stündliche Freisetzung von N und Energie zu berücksichtigen, wird mit der in vitro Methode des modifizierten Hohenheimer Futterwerttest nach STEINGASS ET AL. (2001) (siehe auch Kapitel 2.2.2) neben dem nXP auch die RNB über verschiedene Inkubationszeiten ermittelt. Ist die ermittelte RNB zu jedem Zeitpunkt z.B. 4h, 8h, 12 und 24h Null wird die Ration als synchron bezeichnet.

Nach CABRITA ET AL. (2006) können in Verbindung mit einer synchronen Rationsgestaltung folgende positiven Effekte beobachtet werden:

- Steigerung der mikrobiellen Proteinsynthese
- Effizientere Pansenfermentation
- Verbesserte Futternutzung
- Höhere tierische Leistungen

Dennoch finden sich zu den Auswirkungen einer synchronen Rationsgestaltung in der Literatur insgesamt sehr uneinheitliche Ergebnisse. Dies ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass in einigen Studien bereits die alleinige Synchronisierung des Kraftfutters unter Ausschluss der Abbaudynamik des Grundfutters als synchrone Rationsgestaltung verstanden wird (z.B. HERRERA-SALDANA UND HUBER, 1989; HERRERA-SALDANA ET AL., 1990). Jedoch verhalten sich die meisten Grundfutter in sich, bezogen auf die N- und CHO-Abbauraten asynchron (STEINGASS ET AL., 2003), eine Nichtberücksichtigung ihrer Abbaueigenschaften kann deshalb zu Fehlinterpretationen führen.

Auch die bloße Kombination von Futtermitteln aufgrund ihrer Eingruppierung in schnell bzw. langsam abbaubare CHO- bzw. Proteinquellen (z. B. CASPER ET AL., 1999) kann nur als relativ

## Kapitel 3

grobes Synchronisierungsmodell betrachtet werden, solange keine stetige Angleichung der CHO- und N-Freisetzungsraten über den Tag hinweg erfolgt.

Aufgrund dieser Sachverhalte liegt in Tabelle 20 der Schwerpunkt in erster Linie auf Untersuchungen zur Synchronisierung, bei denen entweder eine Synchronisierung mit Synchronismusindex aus in situ Daten oder eine Synchronisierung über die im Zeitverlauf in vitro ermittelte RNB vorgenommen wurde, da beide Vorgehensweisen eine kontinuierliche Anpassung der Abbauraten von N und Energie der Gesamtration verfolgen.

Tabelle 20: Effekte synchroner Rationsgestaltung auf mikrobielle Proteinsynthese und Leistung

Spezies	Synchronität	Effekte der Synchronisierung	Quelle
Hammel	In situ/SI	mikr. N (g N/kg TMA) ↑ (tend.) Effizienz MPS (g N/kg DOM) ↑ (tend.)	SINCLAIR ET AL., 1993
Hammel	In situ/SI	Effizienz MPS (g N/kg DOM) ↑	SINCLAIR ET AL., 1995
Lamm	In situ/SI	tägl. Zunahmen ↑ Futtermittelnutzung ↑ Nierenfettmenge ↑	WITT ET AL., 1999 A
Lamm	In situ/SI	Futtermittelnutzung ↑ Ausschlachtung ↓ Kotelettfäche ↓	WITT ET AL., 1999 B
Schaf	In situ/SI	Milchleistung u. Milcheiweißgehalt ↔ Milchfettgehalt ↓	WITT ET AL., 2000
Milchkuh	In vitro/RNB	Effizienz MPS (g N/kg DOM) ↑ Milchleistung und Milchzusammensetzung ↔	KELLER, 2003
Milchkuh	*	Milchleistung ↑	HERRERA-SALDANA UND HUBER, 1989
Milchkuh	*	MPS ↑	HERRERA-SALDANA ET AL., 1990
Milchkuh	*	Milchleistung (FCM) ↓	CASPER ET AL., 1990
Milchkuh	*	MPS ↔ Milchleistung und Milchzusammensetzung ↔	CASPER ET AL., 1999

↑ positiver Effekt, ↓ negativer Effekt, ↔ ohne Effekt, SI = Synchronismusindex, MPS = mikrobielle Proteinsynthese  
\* in diesen Studien erfolgte keine Synchronisierung im Sinne der Definition in Kap. 3.2.1

Bei allen in Tabelle 20 aufgeführten in situ bzw. in vitro Studien konnte, sofern untersucht, sowohl bei Milchkühen als auch bei Schafen eine Verbesserung der mikrobiellen Proteinsynthese bei einer Synchronisierung erzielt werden. Hinsichtlich Milchleistung und Milchzusammensetzung war eine Synchronisierung bei WITT ET AL. (2000) und KELLER (2003) nicht mit einer Leistungssteigerung verbunden. Dagegen reagierten wachsende Lämmer bei restriktiver Futtervorlage oder ad libitum Gabe synchroner Futterrationen mit einer verbesserten

## Kapitel 3

---

Futtermittelnutzung (WITT ET AL., 1999A; 1999B) sowie teilweise höheren täglichen Zunahmen (WITT ET AL., 1999A).

In verschiedenen Studien wurden bei synchroner Rationsgestaltung außerdem geringere Fluktuationen der Pansenammoniakkonzentration (KELLER, 2003) sowie niedrigere Plasma-Harnstoffkonzentrationen im Tagesverlauf beobachtet (WITT ET AL., 1999B; 2000), was mit einer verbesserten Ammoniakbindungskapazität der Mikroben in Verbindung gebracht wird (KOLVER ET AL., 1998; MAENG ET AL., 1997).

### 3.1.3 Methanproduktion im Pansen

Der Hauptteil der vom Wiederkäuer emittierten Methanmenge wird im Pansen produziert, während auf den Darm nur etwa 13 % entfallen (MURRAY ET AL., 1978). Die Methanproduktion des Pansens fungiert als terminale Elektronensenke des anaeroben mikrobiellen Abbaus der organischen Masse (OM) (HOBSON UND WALLACE, 1982), bei welchem die Pansenmikroben, bestehend aus Bakterien, Protozoen und Pilzen, die im Futter enthaltenen Kohlenhydrate zu flüchtigen Fettsäuren, CO<sub>2</sub> und Wasserstoff (H<sub>2</sub>) fermentieren. Daneben entstehen aus dem ruminalen Proteinabbau durch oxidative Decarboxylierung von Aminosäuren und durch Spaltung von Harnstoff ebenfalls CO<sub>2</sub> sowie weiterer H<sub>2</sub> aus dem Aminosäurenabbau (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2000). Die gebildeten flüchtigen Fettsäuren werden über die Pansenwand absorbiert, während H<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> von den methanogenen Archaea zur Synthese von Methan genutzt werden (WOLIN, 1979). Das Methan sammelt sich im dorsalen Pansensack und wird zusammen mit dem übrigen, nicht zur Methanproduktion verwendeten CO<sub>2</sub>, sowie etwas H<sub>2</sub> und Spuren von O<sub>2</sub> und N aus der eingeatmeten Luft, über den Ruktus in die Umwelt emittiert (ØRSKOV UND RYLE, 1990; MC DONALD, 1996). Die Methanogenese aus CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> verläuft über die vier reduktiven Zwischenstufen Formyl, Methenyl, Methylenyl und Methyl (MC ALLISTER ET AL., 1996) nach folgender Gleichung (JEROCH ET AL., 2008)



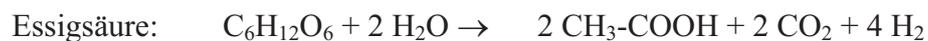
Bei dieser Reaktion entsteht Energie in Form von ATP, außerdem wird das Gasvolumen im Pansen auf ein Fünftel des Ausgangsvolumens reduziert (JEROCH ET AL., 2008) und, wie bereits erwähnt, kommt den Methanbildnern eine wichtige Funktion in der Aufrechterhaltung eines niedrigen H<sub>2</sub>-Partialdrucks im Pansen zu (RUSSELL UND MARTIN, 1984; HINO UND RUSSELL, 1985). Dieser verhindert, dass reduzierte Nukleotide wie NADH akkumuliert werden, was in letzter Konsequenz zum Erliegen der Fermentation im Pansen führt (JOUANY, 1994) und die Bedeutung des Methans als unvermeidbares Endprodukt der Pansenfermentation unterstreicht. So erfolgt bei einem H<sub>2</sub>-Partialdruck unter 10 Pa über Hydrogenasen die thermodynamisch günstigere Reoxidation von NADH anstelle von Pyruvat, welches ansonsten zur Erzeugung von Laktat und Ethanol verwendet werden würde (SOWERS, 2000; RUSSELL UND WALLACE, 1988). Durch die Verschiebung der Reaktion in Richtung H<sub>2</sub>-Produktion kann ATP infolge einer vermehrten Acetatsynthese gespart (SOWERS, 2000) und so die energetische Effizienz und das Ausmaß der Faserverdauung durch andere Pansenmikroorganismen verbessert werden, wobei die Synergieeffekte des H<sub>2</sub>-Transfers in Form von Cokulturen zwischen den Pansen-

## Kapitel 3

---

mikroorganismen entscheidenden Anteil daran haben (JOBLIN ET AL., 1989; WILLIAMS ET AL., 1994), siehe auch Kapitel 2.1.2.

Da die Methanbildner auf die Reduktionsäquivalente von anderen Pansenmikroorganismen angewiesen sind (WOLIN UND MILLER, 1988), steht das Ausmaß der Methanproduktion in enger Wechselwirkung mit allen Faktoren, die die Pansenfermentation beeinflussen und damit auch das Muster der Fermentationsstöchiometrie der Hexosen zu den drei wichtigsten flüchtigen Fettsäuren Essig-, Propion- und Buttersäure, welches ØRSKOV UND RYLE (1990) wie folgt beschreiben:



Die Bildung von 2 mol Propionsäure aus 1 mol Hexose erfordert den Einbau von 2 mol H<sub>2</sub>, außerdem steht nach der Reaktion kein weiterer Wasserstoff mehr für die Methanproduktion zur Verfügung (HUNGATE, 1966), was sich in einer inversen Beziehung zwischen Methan- und Propionsäuresynthese im Pansen widerspiegelt (VAN NEVEL ET AL., 1974). Dagegen entsteht bei der Acetat- und Butyratproduktion jeweils noch zusätzlicher H<sub>2</sub> als potentielles Substrat für die Methanogenese, mit der höchsten Menge von 4 mol H<sub>2</sub> pro mol fermentierter Hexose bei Acetat. Ausgehend vom Brennwert des Methans mit 39,56 kJ/l (MC LEAN UND TOBIN, 1987) stellt die Methanproduktion einen erheblichen Energieverlust für den Wiederkäuer dar. Beispielsweise gehen einer Milchkuh durch die Methanemission 5 bis 10 % der aufgenommenen Bruttoenergie (GE) (TAMMINGA, 1992; JOUANY, 1994) oder 8 bis 12 % der verdaulichen Energie (DE) (TAMMINGA, 1992) verloren. Beim adulten Schaf schwankt das Minus zwischen 4 und 10 % der GE (KREUZER ET AL., 1986A; MURRAY ET AL., 1978; SEELEY ET AL., 1969), während bei wachsenden Lämmern von KEMPTON UND LENG (1979) und JOHNSON (1974) eine Bandbreite von 5-6 % der GE angegeben wird. Die jeweilige Höhe der Energieverluste durch die Methanproduktion ist von verschiedenen rations-, tier- und umweltspezifischen Faktoren abhängig, die im folgenden Kapitel diskutiert werden sollen.

### 3.1.3.1 Einflussfaktoren auf das Ausmaß der Methanproduktion

#### 3.1.3.1.1 Fütterungsniveau

Eine Anhebung des Ernährungsniveaus ist mit einem Anstieg der absoluten Methanproduktion pro Tier und Tag verbunden, da im Pansen aufgrund der insgesamt höheren Futtermenge mehr fermentierbares Substrat zur Verfügung steht (MURRAY ET AL., 1978). Bezogen auf die jeweilige Einheit aufgenommener Futtertrockenmasse (KURIHARA ET AL., 1997; SHIBATA ET AL., 1993) und Bruttoenergie (GE) (BLAXTER UND CLAPPERTON, 1965) verringert sich die produzierte CH<sub>4</sub>-Menge. JOHNSON ET AL. (1993) quantifizieren den Rückgang der CH<sub>4</sub>-Produktion auf 1,6 % je Einheit Ernährungsniveau. Diese Abnahme beruht auf einer erhöhten Passagerate des Futters (MATHISON ET AL., 1998) verbunden mit einer kürzeren Verweildauer im Pansen, die den Anteil der mikrobiellen Fermentation pro Kilogramm Futter reduziert, wovon auch die CH<sub>4</sub>-Produktion betroffen ist (SCHIEMANN ET AL., 1971; HOFFMANN ET AL., 1972; MOE UND TYRELL, 1980). Dies bestätigt auch die Untersuchung von OKINE ET AL. (1989), welche durch das Platzieren von Gewichten im Pansen eine höhere Passagerate erzielten, die mit einem 29 % igen Rückgang der CH<sub>4</sub>-Produktion einherging. Außerdem begünstigt eine höhere Passagerate die Produktion von Propionat im Pansen, womit den Methanbildnern Wasserstoff entzogen werden kann (BOADI ET AL., 2004).

#### 3.1.3.1.2 Verdaulichkeit der Ration

Bei Fütterung eines Wiederkäuers entsprechend seines Erhaltungsbedarfs erhöht sich die CH<sub>4</sub>-Produktion mit zunehmender Verdaulichkeit der Ration, unabhängig vom Rationstyp (BLAXTER UND CLAPPERTON, 1965). Wird zusätzlich das Ernährungsniveau angehoben, fällt dessen methansenkender Effekt bei Rationen mit niedriger Verdaulichkeit gering aus. Dagegen kann bei hochverdaulichen Rationen durch ein hohes Fütterungsniveau (z.B. dreifacher Erhaltungsbedarf) aufgrund einer höheren Futterpassagerate ein deutlicher Rückgang der CH<sub>4</sub>-Produktion erreicht werden (BLAXTER UND CLAPPERTON, 1965).

#### 3.1.3.1.3 Futtermittelverarbeitung

Zusätzliche Verarbeitungsschritte wie Mahlen und Pelletieren von Raufutter erhöhen die ruminale Passagerate dieser Futtermittel, womit ein verringerter fermentativer Abbau des Futters im Pansen einhergeht, der mit einer Senkung der CH<sub>4</sub>-Produktion verbunden ist (BLAXTER, 1989; THOMSON UND CAMMELL, 1979). Dieser Effekt ist ausgeprägter bei einer hohen Futteraufnahme, was eine Verringerung der CH<sub>4</sub>-Verluste um 20-40 % pro Einheit aufgenom-

menen Futters bedeuten kann (JOHNSON UND JOHNSON, 1995). Generell werden die Methanverluste geringer mit zunehmender Feinheit des Raufutters bzw. dem Pelletierprozess (HIRONAKA ET AL., 1996; JOHNSON ET AL., 2000). Dieser Effekt beruht auf einer gesteigerten Futteraufnahme durch die geringere Partikelgröße (MOORE, 1964) und einer verringerten Verdaulichkeit insbesondere der Rohfaser (VAN SOEST, 1983), aufgrund einer höheren ruminalen Passagerate, die eine kürzere Verweildauer des Futters im Pansen zur Folge hat (JOHNSON ET AL., 2000). Darüber hinaus erfolgt durch den Mahl- und Pelletierprozess eine Verschiebung im molaren Anteil der flüchtigen Fettsäuren zugunsten der Propionsäure auf Kosten der Essigsäure (VAN SOEST, 1983; LELIBOUX UND PEYRAUD, 1999).

### 3.1.3.1.4 Futterart und Reifestadium bei Grundfutter

Die Fütterung von Leguminosen führt im Vergleich zu Gräsern zu einer geringeren CH<sub>4</sub>-Produktion (VARGA ET AL., 1985), da erstere geringere Anteile Strukturkohlenhydrate aufweisen, was sich in einer schnelleren Passagerate, verbunden mit einer verstärkten Propionatproduktion, widerspiegelt (JOHNSON UND JOHNSON, 1995).

Bei Gräsern sinkt mit zunehmender Reife das Verhältnis löslicher Kohlenhydrate zu Strukturkohlenhydraten (VAN SOEST, 1983), dementsprechend steigt die CH<sub>4</sub>-Produktion aus Gräsern mit zunehmendem Pflanzenalter (ARMSTRONG, 1964).

### 3.1.3.1.5 Nährstoffzusammensetzung der Ration

Die in den Futtermitteln enthaltenen Rohnährstoffe besitzen ein unterschiedlich methanogenes Potential, wobei der Fraktion der Kohlenhydrate die höchste Bedeutung zukommt (MOE UND TYRELL., 1980). Die tägliche CH<sub>4</sub>-Freisetzung bei Milchkühen steht in folgender Beziehung zu den Rohnährstoffgehalten (KIRCHGESSNER ET AL., 1995) bzw. zu den Gehalten an verdaulichen Nährstoffen der Futterration (JENTSCH ET AL., 2007):

$$\text{CH}_4 \text{ (g/d)} = 63 + 79 \text{ XF (kg/d)} + 10 \text{ XX (kg/d)} + 26 \text{ XP (kg/d)} - 212 \text{ XL (kg/d)} \quad (\text{R}^2 = 69 \%)$$

$$\text{CH}_4 \text{ (kJ)} = 1142 + 1,62 \text{ dXP (g)} - 0,38 \text{ dXL (g)} + 3,78 \text{ dXF (g)} + 1,49 \text{ dXX (g)} \quad (\text{R}^2 = 90 \%)$$

Der Rohfasergehalt sowie der Gehalt an verdaulicher XF der Ration stimulieren am stärksten die Methanogenese (MOSS ET AL., 2000) und sind nach KIRCHGESSNER ET AL. (1995) und JENTSCH ET AL. (2007) für 45 bis 60 % der täglich produzierten CH<sub>4</sub>-Menge verantwortlich. Hintergrund ist die in erster Linie beim Struktur-CHO-Abbau gebildete Essigsäure, welche hohe H<sub>2</sub>-Mengen für die Methanproduktion bereitstellt (JOHNSON UND JOHNSON, 1995). Demgegenüber verursacht

die Fermentation hoher Anteile N-freier Extraktstoffe, welche hauptsächlich aus leicht löslichen CHO bestehen, eine Verschiebung des Fermentationsmusters der flüchtigen Fettsäuren in Richtung Propionsäure, welche in inverser Beziehung zur CH<sub>4</sub>-Produktion steht (VAN NEVEL ET AL., 1974), woraus in oben dargestellten Regressionsgleichungen ein geringer Beitrag von lediglich 10 g CH<sub>4</sub>/kg XX bzw. 1,49 kJ/g dXX resultiert. Doch auch bei den leicht löslichen CHO lässt sich das methanogene Potential differenzieren. So besitzen Zuckerverbindungen, darunter in erster Linie Saccharose, Glucose und Fructose ein höheres CH<sub>4</sub>-Freisetzungsvermögen als Stärke (CZERKAWSKI UND BRECKENRIDGE, 1969; HINDRICHSEN ET AL., 2003, 2004), welches auf die verstärkte Butyratbildung bei der Fermentation von Zucker im Gegensatz zu Propionsäure bei Stärke zurückzuführen ist (MÜLLER ET AL., 1994).

Auch der Rohproteingehalt der Futtermittelration leistet einen Beitrag zur Methanproduktion, da aus dem ruminalen Proteinabbau per se Methan entsteht (KIRCHGESSNER ET AL., 1994). Jedoch besitzt das Rohprotein lediglich rund ein Drittel der methanogenen Wirksamkeit verglichen mit der Rohfaser, was bei einer mittleren Nährstoffzusammensetzung der Ration einem prozentualen Anteil von 12,8 % an der Methanbildung entspricht (JENTSCH ET AL., 2007). Ein Rückgang der Methanproduktion ist bei einem XP-Gehalt von < 12% der TS aufgrund einer defizitären Versorgung der Mikroben mit NH<sub>3</sub> zu beobachten, welche eine Beeinträchtigung der gesamten ruminalen Mikroflora nach sich zieht (KREUZER UND KIRCHGESSNER, 1985; KURIHARA ET AL., 1997).

Entgegen den übrigen Rohnährstoffen verursacht das Rohfett bzw. das verdauliche Rohfett eine starke Depression der Methanogenese (GIGER-REVERDIN ET AL., 1992; JENTSCH ET AL., 2007). Dieser Effekt beruht je nach verwendeter Fettquelle auf verschiedenen Mechanismen, die in Kapitel 3.1.3.2.1 beschrieben werden.

### **3.1.3.1.6 Ruminales Abbauverhalten von Kohlenhydraten und Proteinen**

Zwischen den einzelnen Futtermitteln bestehen große Unterschiede im Ausmaß und in der Geschwindigkeit des Nährstoffabbaus im Pansen, da diese verschiedene native oder prozesstechnisch erzeugte Widerstandsmechanismen gegen den ruminalen Abbau besitzen (CONE, 1991; MC ALLISTER ET AL., 1993). Grundsätzlich liefern Futter-CHO und -Proteine, die erst im Dünndarm fermentiert werden (Bypass-Substanzen), keinen H<sub>2</sub> als Substrat für die ruminale Methanogenese.

Die natürliche Variationsbreite der Stärkeabbaubarkeit von Getreidearten im Pansen reicht von 50-90 % (LOOSE, 2000), wobei C<sub>4</sub>-Pflanzen (Mais, Sorghum) generell langsamer fermentiert werden als C<sub>3</sub>-Pflanzen wie Hafer oder Gerste (MC ALLISTER ET AL., 1990). So berichten

WHITELAW ET AL. (1984) von Methanverlusten bei getreidereichen Rationen auf Basis Gerste im Bereich von 6,5 bis 12 % der GE, die somit weit höher sind im Vergleich zu Mais betonten Rationen auf einem ähnlichem Fütterungsniveau, was auf die höhere ruminale Abbaubarkeit der Gerste zurückgeführt werden kann (JOHNSON ET AL., 2000).

Bei Proteinträgern in Wiederkäuerrationen beträgt die Variationsbreite der ruminale Abbaubarkeit 40-85 % (DLG, 1997). Soweit bekannt ist, liegen über Proteinquellen verschiedener Abbaubarkeit und Abbauraten bislang keine Untersuchungen hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf die Methanproduktion vor.

### **3.1.3.1.7 Fütterungsfrequenz**

Eine niedrige Fütterungsfrequenz führt zu stärkeren Fluktuationen des Pansen-pH-Wertes im Tagesverlauf, außerdem verursachen wenige Mahlzeiten pro Tag niedrigere pH-Minima (SHABI ET AL., 1999), was sich nachteilig sowohl auf die pH-sensitiven Bakterien- und Protozoenspezies wie Cellulolyten und Ciliaten als auch auf die Methanbildner auswirken kann (LEE UND CHOI, 1992; SUTTON ET AL., 1986). Im Gegenzug zur reduzierten Acetatproduktion werden bei niedriger Fütterungsfrequenz die pH-toleranteren, hauptsächlich Propionsäure produzierenden, Spezies begünstigt werden, woraus eine Abnahme des Acetat:Propionat-Verhältnisses resultiert (SUTTON ET AL., 1986; FRENCH UND KENNELLY, 1990; CASPER ET AL., 1999). So konnte durch eine Reduktion der Kraftfuttergabe von sechs auf zweimal täglich bei laktierenden Kühen in der Studie von MÜLLER ET AL. (1980) eine 10 % ige Abnahme der CH<sub>4</sub>-Produktion bezogen auf die GE-Aufnahme erreicht werden.

### **3.1.3.1.8 Umweltbedingungen**

Über den Einfluss der Umgebungstemperatur auf die Methanproduktion wird in der Literatur kontrovers berichtet. In älteren Untersuchungen von GRAHAM ET AL. (1959) wurde beim adulten Schaf bei Reduktion der Umgebungstemperatur von 33 auf 8 °C eine 20 % ige Reduktion der CH<sub>4</sub>-Emission erzielt. Nach ROGERSON (1960) verhalten sich die Temperatureffekte auf die CH<sub>4</sub>-Produktion in einem Temperaturkorridor von 20 bis 40 °C variabel. Eine Studie der Autoren VON KEYSERLINGK UND MATHISON (1993) ergab eine um 14 % höhere CH<sub>4</sub>-Produktion bei 5 °C als bei 21 °C. Dies bestätigen ebenfalls neuere Untersuchungen von MOSS ET AL. (2001). Die Autoren fütterten an Hammel getrocknete Luzerne entsprechend dem Erhaltungsbedarf bei 4,9 und 21,8 °C. Die niedrigere Temperaturstufe verursachte einen signifikanten Anstieg der CH<sub>4</sub>-Produktion von 37,6 auf 39,6 l/d, wobei die Temperatur im Pansen und die scheinbare Verdaulichkeit der OM nicht beeinträchtigt waren. Jedoch konnte eine tendenziell höhere in situ-

Abbaubarkeit der OM von 693 versus 679 g/kg TM beobachtet werden, die nach den Autoren für die höhere CH<sub>4</sub>-Menge verantwortlich ist.

### **3.1.3.1.9 Interspezieseffekte**

Bereits in den Untersuchungen von BLAXTER UND CLAPPERTON (1965) wird auf 7-8 % tierindividuelle Unterschiede beim Schaf in der CH<sub>4</sub>-Produktion hingewiesen, die auf eine unterschiedlich ausgeprägte methanogene Flora bei den einzelnen Tieren zurückzuführen sind. Bei ULYATT ET AL. (1999) beträgt der Anteil der interspezifischen Variation an der täglichen CH<sub>4</sub>-Emission grasender Schafe 50-88 %. PINARES-PATINO ET AL. (2001) berichten bei ausgewachsenen Romney Hammeln von 62 % interspezifischen Unterschieden in der CH<sub>4</sub>-Produktion bei einer mittleren CH<sub>4</sub>-Produktion von 5,2 % der GE. Ein Anteil von 57 % der Interspeziesunterschiede war durch eine unterschiedliche Partikelaustrittsrate bedingt, die eine negative Korrelation zur Pansenfüllung ( $r = 0,69$ ) und zur scheinbaren Verdaulichkeit der Cellulose ( $r = 0,65$ ) aufwies. Diese Beziehungen lassen nach Ansicht von PINARES-PATINO ET AL. (2001) auf tierindividuelle Einflussfaktoren in Bezug auf die CH<sub>4</sub>-Emission schließen.

### 3.1.3.2 Nutritive Strategien zur Senkung der ruminalen Methanogenese

In den Übersichtsarbeiten von JOHNSON UND JOHNSON (1995); BOADI ET AL. (2004); FLACHOWSKY UND BRADE (2007) sowie BEAUCHEMIN ET AL. (2008) werden umfassend verschiedene Vorgehensweisen zur Reduzierung der Methanemissionen beschrieben. Im folgenden Kapitel soll der Schwerpunkt auf Vermeidungskonzepte durch Modifikationen in der Rationsgestaltung gelegt werden.

In der Verordnung EG 1831/2003 des Europäischen Parlamentes und des Rates über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung wurde innerhalb der Europäischen Union der Einsatz von wachstumsfördernden Antibiotika verboten. Chemische Additiva wie z.B. Ionophoren werden deshalb in den nachfolgenden Ausführungen nicht berücksichtigt.

#### 3.1.3.2.1 Futterfette

Die methansuppressive Wirkung von Futterfetten beruht auf verschiedenen Mechanismen. Außerdem ist nach BEAUCHEMIN ET AL. (2008) das Ausmaß der Methanreduktion abhängig von der verwendeten Fettquelle, dem Fettsäuremuster, der Höhe der Supplementierung, der Form der Verabreichung sowie der Zusammensetzung der Grundration.

Mittelkettige gesättigte Fettsäuren senken die Methanogenese durch eine direkte Hemmung der Methanbildner und Protozoen (HENDERSON, 1973; DONG ET AL., 1997; MATSUMOTO ET AL., 1991), wobei in vivo und in vitro Laurinsäure (C12) im Vergleich zu Myristinsäure (C14) eine stärkere Depression der Methanbildung verursachte (BLAXTER UND CZERKAWSKI, 1966; DOHME ET AL., 2001). Jedoch zeigten in einer RUSITEC-Studie von SOLIVA ET AL. (2004) auch Kombinationen von Laurin- mit Myristinsäure im Verhältnis 4:1 und 3:2 ein hohes methansuppressives Potential von 70 bzw. 60 % gegenüber der Kontrolle.

Ein ähnliches C12:C14-Verhältnis liegt natürlicherweise in den pflanzlichen Ölen von Kokosnuss und Palmkern vor. Dosierungen von 8 -10 % Kokosnussöl bewirkten in vitro einen Rückgang der Methanproduktion um 20-85 % (DONG ET AL., 1997; DOHME ET AL., 2000). Bei in vivo Versuchen mit Kokosnussölanteilen von 2,5 bis 7 % der Ration ging die Methanogenese um 14-73 % zurück (MACHMÜLLER ET AL., 2000; 2003B; MACHMÜLLER UND KREUZER, 1999).

Auch langkettige Fettsäuren, insbesondere die freien, ungesättigten reduzieren die Methanbildung in vitro und in vivo (CZERKAWSKI ET AL., 1966; DEMEYER UND HENDERICKX, 1967). Dies beruht einerseits auf der direkt toxischen Wirkung der Fettsäuren gegenüber grampositiven Cellulolyten, Protozoen und methanogenen Archaea (MACZULAK ET AL., 1981; BROUDISCOU ET AL., 1990; HEGARTY, 1999A,B), wohingegen gramnegative Bakterien, die

## Kapitel 3

vornehmlich Propionat produzieren, weniger tangiert werden (HENDERSON, 1973). Die Folge ist eine Verengung des Acetat/Propionatverhältnisses und damit resultiert weniger verfügbarer Wasserstoff für die Methanogenese (VAN NEVEL ET AL., 1974). Auch die Hemmung der Protozoen senkt die verfügbare H<sub>2</sub>-Menge, da die symbiontische Vergesellschaftung zwischen Protozoen und Methanbildnern aufgehoben wird (siehe auch Kapitel 2.1.2). Gleichzeitig wird den Methanbildnern weiterer Wasserstoff durch die Biohydrogenierung ungesättigter Fettsäuren entzogen, wobei dieser Beitrag zur Reduzierung der Methanproduktion nur eine untergeordnete Bedeutung spielt (CZERKAWSKI, 1972; VAN NEVEL UND DEMEYER, 1995).

Ein hoher Anteil der methaninhibierenden Wirkung von Fetten beruht auf der Verringerung der Verdaulichkeit der organischen Masse, insbesondere der Rohfaser. Je weniger Substrat für die Fermentation im Pansen zur Verfügung steht, desto geringer ist die gebildete Methanmenge (JOHNSON UND JOHNSON, 1995). Diesen Sachverhalt bestätigt auch eine Untersuchung von FINGER (1999) die den Einfluss steigender Fettzulagen von 2, 4, und 6 % in Form von Sonnenblumensaat an Schafen überprüfte (siehe Tabelle 21). Mit Zunahme des Rohfettgehalts der Ration sank stetig die Methanausscheidung um 0,84 g pro Tier und Tag je Prozent Fettsteigerung ( $R^2 = 0,72$ ). Gleichzeitig nahm aber auch die Verdaulichkeit der Energie bei den beiden höheren Fettstufen beträchtlich ab, wodurch die umsetzbare Energie signifikant vermindert wurde. Der letztere Effekt wird bei Einsatz partiell geschützter Fette auch in weiteren Studien beschrieben (BARTETZKO, 1995; MACHMÜLLER ET AL., 2000).

Tabelle 21: Einfluss steigender Fettzulagen auf die Energieverluste in Methan und Kot beim Schaf

Rohfettgehalt in % TS	Methanenergie (% d. GE)	Kotenergie (% d. GE)	Umsetzbarkeit q (% d. GE)
2,2	8,5 <sup>a</sup>	25,8 <sup>a</sup>	62,4 <sup>a</sup>
4,2	7,7 <sup>ab</sup>	25,6 <sup>a</sup>	63,4 <sup>a</sup>
6,3	7,4 <sup>b</sup>	31,4 <sup>b</sup>	57,9 <sup>b</sup>
8,4	6,1 <sup>c</sup>	31,2 <sup>b</sup>	58,9 <sup>b</sup>

\*60% Heu, 40% Kraftfutter

Quelle: FINGER, 1999

Dementsprechend enge Grenzen sind der Fetttoleranz des Wiederkäuers gesetzt. Um eine Beeinträchtigung der Pansenmikroorganismen mit einhergehender Depression des Abbaus von Nichtstärkepolysacchariden zu vermeiden (JEROCH ET AL., 2008), was in letzter Konsequenz zur quantitativen und qualitativen Minderung der tierischen Leistungen führen kann (BOADI ET AL., 2004), sollte der Anteil ungeschützter Fette 4 bis 5 % der Futtermischung nicht überschreiten (FLACHOWSKY UND BRADE, 2007). So gelang in Verdauungs- und Respirationsversuchen mit

Milchkühen bei Einsatz von 4 % Fett in Form von Sonnenblumensamen eine Absenkung der prozentualen Methanverluste um 17,5 % ohne Beeinträchtigung der Rohfaserverdaulichkeit (FINGER, 1999).

### 3.1.3.2.2 Verstärkter Einsatz von Bypass-Substanzen (CHO und Protein)

Bypass- oder Durchfluss-CHO bzw. -Proteine passieren intakt das Vormagensystem der Wiederkäuer und werden erst im Dünndarm enzymatisch abgebaut. Dementsprechend weniger Substrat steht für die mikrobielle Fermentation im Pansen zur Verfügung, wovon auch die Methanbildner betroffen sind.

In der Literatur sind nur wenige Studien über den Einsatz von Bypass-CHO-Trägern in Bezug auf die Methanproduktion zu finden (aufgeführt in Tab. 22). Bei Konzentrat-dominierten Rationstypen konnte eine signifikante Reduktion der Methanbildung bei der Verwendung des Bypass-CHO Körnermais gegenüber Gerste als Haupttrationskomponente erzielt werden. Eine tendenzielle Minderung trat auch bei LEBERL (2001) mit Maissilage versus Grassilage auf, während bei BEAUCHEMIN UND MC GINN (2005) die langsamer und weniger umfangreich im Pansen abbaubare Maissilage zu einer höheren Methanproduktion als Gerstensilage führte.

Tabelle 22: Methanproduktion bei Einsatz von Bypass-CHO

Rationsanteil	Spezies	CH <sub>4</sub> in % GE <sup>1</sup>	Quelle
Maissilage und Heu (50%)	Milchkuh	5,1 <sup>a</sup>	LEBERL, 2001
Grassilage und Heu (50%)		5,5 <sup>a</sup>	
Gerstensilage (70%)	Mastrind	7,3 <sup>a</sup>	BEAUCHEMIN UND MC GINN, 2005
Maissilage (70%)		7,6 <sup>a</sup>	
Gerste (81%)	Mastrind	4,0 <sup>a</sup>	BEAUCHEMIN UND MC GINN, 2005
Körnermais (81%)		2,8 <sup>b</sup>	

<sup>1</sup>Verschiedene Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede bei den jeweiligen Studien

### 3.1.3.2.3 Steigerung der Propionatproduktion im Pansen

Bei der Bildung von Propionat über den Acrylat- oder Succinatweg wird Wasserstoff verbraucht, welcher somit nicht mehr als Substrat für die Methanogenese zur Verfügung steht (HEGARTY, 1999B). Eine gezielte Verschiebung des Fermentationsmusters der FFS zugunsten des Propionats auf Kosten von Acetat und Butyrat verringert die Methanbildung (HUNGATE, 1966) und wird in der Literatur durch eine Reihe von Maßnahmen beschrieben.

## Kapitel 3

### CHO-Quelle und Anteil an Gesamtration

Grundfutter beinhalten vornehmlich Struktur-CHO, die in erster Linie zu Acetat fermentiert werden, was wiederum förderlich für die Methanproduktion ist (JOHNSON UND JOHNSON, 1995). Aus Kraftfutter-CHO, welche primär aus den leicht löslichen CHO Stärke und Zucker bestehen, entsteht dagegen zu höheren Anteilen Propionsäure. Demnach resultiert eine Verschiebung des Grundfutter-Kraftfuttermverhältnisses in Richtung Kraftfutter in einer verstärkten Propionsäurebildung mit einhergehender verminderter Methanogenese (BLAXTER UND CLAPPERTON, 1965). So führte in einer Untersuchung von ØRSKOV ET AL. (1968) (siehe Tab. 23) eine Steigerung des Kraftfutteranteils von 40 auf 80 % zu einem Rückgang der Methanproduktion um 42 %.

Tabelle 23: Methanproduktion in Abhängigkeit von CHO-Quelle und Fütterungsniveau bei Milchkühen

	Grundfutter-Kraftfuttermverhältnis					
	60:40		40:60		20:80	
	ad libitum	restriktiv	ad libitum	restriktiv	ad libitum	restriktiv
Aufnahme verdaul. CHO (mol)	43,5	38,0	41,9	36,8	40,9	34,1
Fütterungsniveau (Vielfaches des Erhaltungsbedarfs)	2,14	1,88	2,19	1,94	2,09	1,78
FFS in %						
Essigsäure	66,9	68,0	62,9	62,7	56,7	58,6
Propionsäure	21,1	19,4	24,9	24,6	30,9	27,0
Buttersäure	12,0	12,6	12,2	12,7	12,4	14,4
Methanproduktion (Mcal)	3,1	3,0	2,6	2,4	1,8	1,9
Methan/mol verd. CHO	0,07	0,08	0,06	0,07	0,04	0,05
Methan/Einheit Fütterungsniveau	1,45	1,60	1,19	1,24	0,86	1,06

Quelle: ØRSKOV ET AL., 1968

### Steigerung des Fütterungsniveaus bzw. der Passagerate des Futters

In letztgenannter Studie wurde durch eine Heraufsetzung des Fütterungsniveaus infolge einer ad libitum angebotenen Futtermration ebenfalls eine Senkung der Methanproduktion pro Einheit Fütterungsniveau bzw. aufgenommenen verdaulicher CHO bei den jeweiligen Grundfutter-Kraftfuttermvarianten erzielt, was auch in Untersuchungen von FINGER (1999) und LEBERL (2001) aus neuerer Zeit bestätigt wird.

Diese zusätzliche Methanreduktion lässt sich durch eine Steigerung der Passagerate des Futters erklären (MOE UND TYRELL, 1980), da sich bei stärkereichen Rationen, ad libitum gefüttert, wie z.B. in der Bullen- oder Lämmermast, die Propionatbildung weiter verstärkt (HEGARTY UND GERDES, 1998). Besteht der Rationsanteil an Kraftfutter z.B. aus 70 % oder mehr und werden

die Tiere weit über dem Erhaltungsbedarf gefüttert, resultiert daraus ein Energieverlust an Methan von weniger als 5,2 % der GE (WEDEGAERTNER UND JOHNSON, 1983), bei 90 % Kraftfutter sogar nur noch 2-3 % der aufgenommenen GE (JOHNSON UND JOHNSON, 1995). Hintergrund ist hierfür die durch die hohe Verdauungsgeschwindigkeit der löslichen CHO induzierte Absenkung des pH-Wertes im Pansen, welche das Wachstum von Protozoen und Methanbildnern hemmt (HEGARTY, 1999A). So beobachteten WHITELAW ET AL. (1984) bei Fütterung einer getreidereichen auf Gerste basierenden Ration einen Rückgang um fast 50 % der CH<sub>4</sub>-Produktion bei Ciliaten-freien im Vergleich zu faunierten Bullen.

Darüber hinaus ist eine Erhöhung der ruminalen Passagerate mit einer verbesserten mikrobiellen Effizienz verbunden, womit gleichzeitig zusätzlicher verfügbarer Wasserstoff zum Aufbau mikrobieller Masse anstatt für die Methanproduktion verwendet wird (BEEVER, 1993).

### Propionsäurevorstufen

In den vergangenen Jahren wurden in vitro und in vivo Studien mit verschiedenen organischen Säuren wie Acrylsäure, Fumarsäure etc. durchgeführt. Bei diesen Säuren handelt es sich um Zwischenprodukte im Syntheseprozess des Propionats, die H<sub>2</sub> aufnehmen können, so dass schließlich als Endprodukt Propionat vom Wiederkäuer energetisch verwertet werden kann (FLACHOWSKY UND BRADE, 2007). Vor allem Fumarsäure führte in vitro bei ASANUMA ET AL. (1999); KOLVER ET AL. (2004) und NEWBOLD ET AL. (2005) zu einer Depression der Methanbildung. In vivo konnte allein die Untersuchung von BAYARU ET AL. (2001) an Rindern bei ausschließlicher Rauhfuttermenge einen Rückgang der Methanproduktion erreichen. Eine Ration auf Basis Gersten-Ganzpflanzensilage blieb sowohl bei Bullen (MCGINN ET AL., 2004) als auch bei wachsenden Rindern (BEAUCHEMIN UND MCGINN, 2006) ohne Effekt. Als Ursache führen letztgenannte Autoren zu geringe Dosierungen von Fumarsäure an, die bei etwa 1 % der TM-Aufnahme lagen. So gelang bei einer Supplementierung von Fumarsäure in Höhe von 10 % der Ration und gleichzeitiger Verkapselung in Fett bei Schafen eine Reduktion der emittierten Methanmenge um bis zu 75 % (WALLACE ET AL., 2006). Einsatzmengen auf diesem Niveau wiederum werden jedoch von MC ALLISTER UND NEWBOLD (2008) als wirtschaftlich unrentabel eingestuft.

### **3.1.3.2.4 Synchronisierung**

Wie bereits in Kapitel 3.1.2 beschrieben, führte in verschiedenen Studien eine synchrone Rationsgestaltung zu einer Steigerung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese. Für die de novo Synthese mikrobieller Biomasse wird wie auch für die Produktion von Methan H<sub>2</sub> benötigt.

CZERKAWSKI (1986) quantifizierte den Anteil des H<sub>2</sub>-Verbrauchs für die Zellsynthese auf etwa 12 %, während für die Methanbildung fast 50 % des aus der Pansenfermentation stammenden H<sub>2</sub> aufgewendet werden. Jedoch sind diese Anteile nicht konstant und bei einer synchronen Rationsgestaltung könnte eine zunehmende Verschiebung des H<sub>2</sub>-Pools in Richtung mikrobieller Biomasse stattfinden, womit weniger H<sub>2</sub> für die Methanogenese zur Verfügung stehen würde. Damit besteht die Möglichkeit einer H<sub>2</sub>-Senke durch synchronisierte Futterrationen. Bislang verfolgte nur eine einzige Studie diesen Ansatz bei laktierenden Milchkühen (KELLER, 2003).

### 3.1.3.2.5 Reduktive Acetogenese

Bei verschiedenen Nichtwiederkäuern wie Termiten und Nagetieren wandeln acetogene Bakterien überschüssigen H<sub>2</sub> in Acetat um, welches dann wiederum vom Wirtstier genutzt werden kann (MACKIE UND BRYANT, 1994). Auch bei den Wiederkäuern Schaf und Rind wurden mit *Eubacterium limosum*, *Acetomaculum ruminis* und *Clostridium pfeifferii* (GENTHNER ET AL., 1981; GREENING UND LEEDLE, 1989; KRUMHOLZ UND BRYANT, 1985) acetogene Bakterien isoliert. Die Populationsdichte der Acetogene im Pansen unterliegt starken Schwankungen von unterhalb der Bestimmungsgrenze bis hin zu  $11 \times 10^8$ /g Panseninhalt (LEVAN ET AL., 1998; LEEDLE UND GREENING, 1988), die die Autoren auch auf die Rationsgestaltung zurückführen.

Obwohl die genannten Acetogene CO<sub>2</sub> zu Acetat reduzieren können, vermögen sie auch andere Substrate wie Formiat, Glucose, Cellobiose und Fructose zu nutzen (GREENING UND LEEDLE, 1989; DORE UND BRYANT, 1990).

Durch das breite Substratspektrum kann im Pansen auf natürliche Weise keine effektive Konkurrenz zwischen Methanbildnern und Acetogenen stattfinden. Zudem weisen letzere eine geringere Affinität zu H<sub>2</sub> auf (GREENING UND LEEDLE, 1989), da die Acetogene einen höheren ruminalen Wasserstoffpartialdruck als die Methanbildner benötigen (MACKIE UND BRYANT, 1994). Versuche einer selektiven Hemmung der Methanbildner durch 2-Bromethansulfonsäure (BES), führten bei IMMIG (1996) jedoch zu keiner Förderung der reduktiven Acetogenese, da eine Adaptation der Methanbildner an die BES bereits nach drei Tagen erfolgte. Auch NOLLET ET AL. (1997) empfehlen den Einsatz von BES in Kombination mit einer externen Acetogeninokulierung (*Peptostreptococcus productus*) für die landwirtschaftliche Praxis nicht, da die selektive Hemmung der Methanbildner nicht aufrecht erhalten werden kann.

### 3.1.3.2.6 Tannine

Tannine sind Polyphenole und zählen zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen. Nach MC LEOD (1974) wird zwischen kondensierten und hydrolysierbaren Tanninen unterschieden. Sie beeinflussen die mikrobielle Fermentation durch Komplexbildung mit CHO, Proteinen mikrobiellen Enzymen und Pansenmikroorganismen (NEGI, 1982; GRIFFITH UND JONES, 1977; HENIS ET AL., 1964). Auch Methanbildner reagieren sehr empfindlich gegenüber Tanninzulagen in der Ration (LEINMÜLLER, 1989).

In Bilanzversuchen mit Schafen konnten bei Einsatz verschiedener tanninhaltiger Futterpflanzen zum Teil erhebliche methansenkende Effekte erzielt werden (MARTIN, 1988; CASTRO ET AL., 1994). Dies bestätigen auch Untersuchungen von HAYLER (1999), (siehe Tab. 24), die jedoch bei 50 % tanninhaltiger Futterstoffe (TFM) in der Ration zugleich einen signifikanten Rückgang der Energieverdaulichkeit beobachtete. Deshalb ist der Einsatz tanninhaltiger Pflanzen nur dann als sinnvoll zu bewerten, wenn die Methanproduktion stärker absinkt als die Verdaulichkeit. Bezogen auf die DE konnte bei den tanninreichen tropischen Blattfuttermitteln *Phyllanthus discoideus* und *Mangifera indica* ein Rückgang der Methanbildung mit steigenden Rationsanteilen erreicht werden, während bei Rosskastanien, mit geringeren Tanninkonzentrationen, keine Minderung erkennbar war. Ursache könnte ein zu geringer Tanningehalt gewesen sein, da für eine Reaktion nach TANNER ET AL. (1993) ein bestimmter, relativ hoher Tanningehalt bezogen auf die fermentierbare organische Substanz, vorhanden sein muss.

Aufgrund der schwankenden Tanningehalte in den Pflanzen und der Anwesenheit weiterer inhibitorischer sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe gestaltet sich der Einsatz natürlicher TFM in der praktischen Rationsgestaltung schwierig. Dieses Problem wird auch in den Untersuchungen von OSAKWE (1999) mit weiteren TFM bestätigt. Als Alternative wurden von ROTH (2003) die Wirksamkeit reiner Tanninextrakte geprüft, welche zwar in vitro zur Senkung der ruminalen Methanogenese führten, jedoch in vivo in Form von tanninbehandeltem Sojaextraktionsschrot bei Milchkühen keine methansenkende Wirkung induzierten.

Tab. 24: Wirkung tanninhaltiger Futtermittel auf Verdaulichkeit und Methanproduktion beim Schaf (Grundfutter Heu)

Spezies	Gesamt-phenole in % TM	Tannin-phenole in % TM	Extr. kond. Tannine in % TM	TFM in der Ration			
				0 %	25 %	50 %	
Phyllanthus. Discoideus	4,5	1,8	0,2	DE (% der GE)	58,2 <sup>a</sup>	62,3 <sup>b</sup>	56,9 <sup>b</sup>
				CH <sub>4</sub> (% der GE)	7,9 <sup>a</sup>	6,4 <sup>b</sup>	5,3 <sup>c</sup>
Mangifera Indica	7,8	5,2	0,8	DE (% der GE)	58,7 <sup>a</sup>	55,7 <sup>a</sup>	50,4 <sup>b</sup>
				CH <sub>4</sub> (% der GE)	8,0 <sup>a</sup>	6,2 <sup>b</sup>	4,9 <sup>b</sup>
Aesculus hippo- castanum	2,3	1,4	1,3	DE (% der GE)	67,5 <sup>a</sup>	67,7 <sup>a</sup>	68,4 <sup>b</sup>
				CH <sub>4</sub> (% der GE)	6,5 <sup>a</sup>	7,6 <sup>b</sup>	7,1 <sup>b</sup>

Quelle: HAYLER, 1999

Auch BEAUCHEMIN ET AL. (2007) gelang bei Fütterung von 2 % kondensiertem Tanninextrakt aus *Schinopsis quebracho* bei Färsen keine Senkung der Methanemission. Dagegen ergab in einer Studie von CARULLA ET AL. (2005) die Supplementierung eines kondensierten Tanninextrakts aus *Acacia mearnsii* in Kombination mit einer Grundfütterration aus Gras bzw. Klee gras oder Luzerne gras eine 11-15 % ige Reduktion der Methanbildung bei Lämmern.

### 3.1.4 Ausgangspunkt für die eigenen Untersuchungen

Das mikrobielle Protein leistet einen erheblichen Beitrag zur AS-Versorgung des Wirtstiers. Die Menge an synthetisiertem Mikrobenprotein wird von der Nährstoffverfügbarkeit und der Effizienz der Nutzung dieser durch die Pansenmikroben bestimmt (STERN ET AL., 2006).

Für die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese ist neben Menge und Qualität von CHO und N-haltigen Verbindungen auch deren gleichzeitige Verfügbarkeit von Bedeutung (RUSSELL UND HESPELL, 1981). Hier setzt das Konzept der synchronen Rationsgestaltung an. Zusätzlich senkt ein maximierter N-Einbau in die mikrobiellen Zellen die N-Verluste (STERN ET AL., 2006).

Für die Reduktion der Methanogenese im Pansen kommen grundsätzlich verschiedene, in den vorangegangenen Kapiteln, vorgestellte Strategien in Frage. Jedoch unterliegt die Umsetzung in die landwirtschaftliche Praxis oftmals Restriktionen. So ist etwa der Einsatz von Fetten bedingt durch die limitierte Fetttoleranz der Wiederkäuer nur begrenzt möglich oder aber die Tiere selbst nehmen aufgrund des bitteren Geschmacks tanninhaltige Pflanzen nur eingeschränkt auf.

Andere Konzepte, wie die Supplementierung mittelkettiger Fettsäuren, sind mit erheblichen Kosten verbunden, oder müssen, wie beispielsweise organische Säuren, für einen methan-suppressiven Effekt in hoher Dosis appliziert werden, weshalb diese Maßnahmen als wirtschaftlich unrentabel eingestuft werden (MC ALLISTER UND NEWBOLD, 2008). Auch sollten bei einer Bewertung stets die bei der Erzeugung der Futtermittel entstandenen Emissionen mitberücksichtigt werden, da zwar z.B. durch zunehmenden Austausch von Grundfutter durch Kraftfutter primär die Methanproduktion der Tiere gesenkt wird, jedoch aus den für die Kraftfutterherstellung aufgewendeten Düngern, Pflanzenschutzmitteln, Verarbeitungsschritten und Transportmitteln insgesamt höhere betriebliche Nettotreibhausgasemissionen resultieren (O'MARA, 2004).

Die Möglichkeit der synchronen Rationsgestaltung zur Senkung von Methanemissionen ist bislang an wachsenden Tieren noch nicht überprüft worden. Gerade diese Strategie könnte jedoch durch eine Umverteilung des Wasserstoffs im Pansen in Richtung Aufbau mikrobieller Biomasse die Methanogenese vermindern und vereint somit gleichzeitig das Potential einer Methansenke mit einer verbesserten N-Versorgung.

Im Folgenden soll nun der Einfluss einer synchronen bzw. asynchronen Rationskonzeption basierend auf sowohl langsam als auch schnell abbaubaren N- und CHO-Quellen auf den Stickstoff- und Energieumsatz sowie die Methanproduktion bei wachsenden Lämmern untersucht werden.

### 3.2 Material und Methoden

#### 3.2.1 Versuchstiere

Für die in vivo Bilanzstudien standen 36 männliche Lämmer der Rasse Merinolandschaf zur Verfügung. Die Tiere wurden randomisiert auf sechs Versuchsgruppen mit je sechs Einzeltieren verteilt. Die Lämmer wiesen beim Einstellen ein durchschnittliches Lebendgewicht von 25 kg auf und wurden vor Versuchsbeginn entwurmt und gegen Kokzidien behandelt. Die Haltung der Tiere erfolgte während der 14-tägigen Anfütterungsphase in mit Sägespänen eingestreuten Einzelbuchten, die durch Gitter voneinander abgetrennt waren, um den Lämmern jederzeit Sicht- und Berührungskontakt zu ihren Artgenossen zu geben. In den darauffolgenden Bilanz- und Respirationsversuchen wurden die Tiere in Stoffwechsellkäfigen aufgestellt. Der Versuch wurde von der zuständigen Dienststelle für Tierversuchsvorhaben genehmigt und mit Zustimmung des Tierschutzbeauftragten der Universität Hohenheim durchgeführt.

#### 3.2.2 Rationsgestaltung und Fütterung

Die Tiere erhielten zweimal täglich, jeweils um 7.30 Uhr und 15.30 Uhr, eine Ration bestehend aus 450 g pelletiertem Kraftfutter (OS) und 150 g ungehäckseltem Heu (OS). Wasser stand über Selbsttränken ad libitum zur Verfügung.

Die Rationszusammenstellung, dargestellt in Tab. 25, erfolgte aus Kohlenhydrat- und Proteinträgern unterschiedlicher Abbaugeschwindigkeit. Der Hauptkohlenhydratträger der Kraftfuttermischungen mit langsamer Abbaurate (LL, LM, LS) bestand aus Körnermais mit einem hohen CHO-Bypass. Die Kohlenhydratquelle der drei Versuchsgruppen SL, SM, SS basierte auf einem Gemisch aus Erbsen, modifizierter Stärke und Zucker, deren Kohlenhydrate schnell und umfassend im Pansen fermentiert werden. Über eine Staffelung der Gehalte an Molkenprotein (viel Proteinbypass), Lupinen (mittlerer Proteinbypass) und Harnstoff (kein Proteinbypass) wurde die Menge des Durchflussproteins bzw. N's in den Rationen variiert.

Die Proteinabbaucharakteristika (nutzbares Rohprotein (nXP), Ruminale N-Bilanz (RNB)) der verwendeten Futtermittel wurden in vitro mit dem modifizierten Hohenheimer Futterwerttest nach STEINGAB ET AL. (2001) ermittelt. Modifiziert zur ursprünglichen Inkubationsmethode (VDLUFA, 1976) sind hierbei der um 2g/l höhere Ammoniumhydrogencarbonatgehalt und der um 2g/l verminderte Natriumhydrogencarbonatgehalt der Pufferlösung sowie weitere zusätzliche Inkubationszeiten, welche in diesem Versuch 4, 8, 12 und 24 h betragen. Nach abgeschlossener Inkubation erfolgte eine Ammoniakdestillation vom Inkubationsrückstand. Aus der Ammoniakkonzentration der Probe und des mitgeführten Blindwerts sowie der N-Menge der

## Kapitel 3

Futtermittel wurde das absolute nXP (g/kg TM) für die Zeitpunkte 4, 8, 12 und 24 h sowie über Differenzrechnung aus XP und nXP-Gehalt die RNB der jeweiligen Futtermittel für dieselben Zeitpunkte ermittelt.

Tabelle 25: Rationszusammensetzung:

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS
Abbaurrate CHO	Langsam (Mais)			Schnell (Erbse)		
Abbaurrate XP	Langsam	Mittel	Schnell	Langsam	Mittel	Schnell
-----	in % der Trockenmasse			-----		
Heu 2. Schnitt	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0
Körnermais	60,5	60,5	60,5	-	-	-
Erbsen	-	-	-	33,9	33,9	33,9
Maisstärke	-	0,5	1,1	5,4	5,3	5,4
Maisquellstärke	-	-	-	12,0	12,3	12,5
Zucker	-	-	-	12,0	12,3	12,5
Molkenprotein	8,5	5,6	2,7	5,9	2,9	-
Lupine	-	1,9	3,8	-	1,9	3,8
Harnstoff	0,5	1,1	1,6	0,5	1,1	1,6
Mineralfutter	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
Öl	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1
Nährstoffzusammensetzung der Ration (berechnet)						
-----	in % der Trockenmasse			-----		
XP	16,1	16,1	16,1	16,1	16,1	16,1
XL	5,2	5,3	5,4	3,1	3,0	2,9
XF	8,6	8,9	9,1	10,8	10,5	10,3
ME	12,2	12,1	12,0	12,2	12,4	12,5

Gemäß den Ergebnissen des modifizierten HFT erfolgte die Formulierung der Rationen hinsichtlich ihrer Synchronität. Als synchron wurde eine ausgeglichene RNB definiert. Das bedeutet geringe Schwankungen, die weder einen N-Mangel noch einen N-Überhang im Pansensaft bei entsprechender Energiefreisetzung für die Zeitpunkte 4, 8, 12 und 24 h nach der Fütterung induzieren sollen (siehe Tabelle 26). So wurde entsprechend der Abbaugeschwindigkeit der CHO für den Hauptkohlenhydratträger (L, S) eine in der Geschwindigkeit der N-Freisetzung simultane Proteinträgermischung konzipiert (Rationen LL bzw. SS). Werden diese beiden Proteinmischungen mit den jeweils anderen Hauptkohlenhydratträgern überkreuz kombiniert, erhält man asynchrone Rationen (LS bzw. SL). Dazwischen wurde eine Intermediärstufe eingefügt (LM bzw. SM). Zu bemerken ist zusätzlich, dass durch die nach 8 h

## Kapitel 3

um 16 Uhr erfolgte zweite Fütterung der Tiere eine Überlagerung der Abbauprozesse stattfindet, weshalb das Hauptaugenmerk der Synchronisierung auf die Zeitpunkte 4 und 8 h gelegt wurde.

Tabelle 26: Synchronisierung über die Ruminale N-Bilanz

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS
Abbaurrate CHO	Langsam (Mais)			Schnell (Erbse)		
Abbaurrate XP	Langsam	Mittel	Schnell	Langsam	Mittel	Schnell
RNB						
4 h nach Fütterung	-0,44	1,63	3,70	-4,24	-2,15	-0,06
8 h nach Fütterung	-1,97	-0,56	0,85	-4,86	-3,30	-1,75
12 h nach Fütterung	-4,61	-3,67	-2,74	-3,28	-2,31	-1,35
24 h nach Fütterung	-1,19	-1,21	-1,23	-0,89	1,14	1,38

### 3.2.3 N-/C-Bilanz

In der siebentägigen Bilanzperiode wurde täglich sowohl vom Kraftfutter als auch vom Heu ein Aliquot (10 %) der Sammelprobe zugeführt. Aufgetretene Futterreste wurden nach Heu und Kraftfutter getrennt gewogen und bei 65 °C über drei Tage getrocknet.

Die Kotsammlung erfolgte quantitativ mit Hilfe von Kotbeuteln, die zweimal täglich bei der Fütterung entleert wurden. Der auf diese Weise gewonnene Kot wurde für jedes Tier separat im Kühlraum bei 4 °C gelagert, nach Versuchsende gewogen, homogenisiert und für spätere Analysen bei -20 °C tiefgefroren. Ein weiterer Teil des homogenisierten Kots wurde drei Tage lang bei 65 °C vorgetrocknet.

Der perforierte kunststoffüberzogene Lochboden der Stoffwechselkäfige ermöglichte eine direkte, quantitative Überführung des täglich von den Lämmern abgesetzten Harns in Plastikflaschen. Um N-Verluste zu vermeiden, wurden dem Harn pro 100 g jeweils 5 ml 10 % ige Schwefelsäure zugesetzt. Die Tagesharnproben wurden mit destilliertem Wasser auf 2500 g aufgefüllt, um einer Fällung der Harnsäure während der Lagerung vorzubeugen. Anschließend wurde ein Aliquot von 20 % für die Sammelprobe entnommen und bei 4 °C gekühlt. Nach Abschluss des Bilanzversuchs wurde der Sammelharn homogenisiert und für weitere Analysen bei -20 °C tiefgefroren.

Die Sammelproben von Kraftfutter und Heu, sowie die vorgetrockneten Kot- und Futterrestproben wurden mit einer Schneidmühle der Siebweite 0,7 mm gemahlen. Der Trockenmassegehalt (TM) und die Rohnährstoffgehalte (Rohasche (XA), Rohprotein (XP), Rohfett, (XL) und Rohfaser (XF)) der Proben wurden nach VDLUFA-Methodenbuch (1976)

ermittelt, wobei der Rohproteingehalt des Kotes direkt aus dem Frischkot analysiert wurde. Die Messung des Kohlenstoffgehalts erfolgte mittels eines C-Analysators (VARIOMAX). Nach dem Auftauen wurden die Harnproben hinsichtlich ihrer N- und C-Gehalte ebenfalls mit den beiden oben genannten Methoden untersucht.

### 3.2.4 Gaswechselformung

Für die Gaswechselformung wurden zwei Kleintierkammern nach dem Prinzip des offenen Systems verwendet. Die Mittelwand der Doppelkammern ist mit einem Fenster versehen, um den Tieren Sichtkontakt zu ermöglichen. Die Kammern weisen eine getrennte Zu- und Abluftführung auf, wodurch die Kammern unabhängig voneinander genutzt werden können. Jede Kammer besitzt eine separate Klimaanlage, die während der Messperiode ein konstantes Raumklima mit einer Temperatur von 20 °C ( $\pm 0,3^\circ\text{C}$ ) und eine relative Luftfeuchte von 60-70 % ( $\pm 2$  %) erzeugt. Das Luftvolumen einer Respirationsskammer beträgt 5000 l mit einem täglichen Luftdurchsatz von 50 m<sup>3</sup>. Die Messdauer der Gasumsetzungen belief sich auf insgesamt 48 h je Tier, unterteilt in zwei Messtage à 24 h. Während eines Messtages wurde kontinuierlich ein Aliquot der Kammerabluft in Gasrezipienten abgeführt. Diese Durchschnittsprobe sowie die zugeführte Frischluft wurden am Ende des Messtages auf ihre Gaszusammensetzung hinsichtlich Methan, Kohlendioxid und Sauerstoff untersucht. Die Methan- und Kohlendioxidgehalte wurden mit einem Infrarotabsorptionsverfahren über einen Uras-Gasanalysator der Firma HARTMANN & BRAUN bestimmt, die Sauerstoffkonzentration wurde paramagnetisch mit einem „Magnos“ der Firma HARTMANN & BRAUN gemessen. Die Gasanalysen erfolgten unter standardisierten Bedingungen. Alle Angaben beziehen sich auf 0 °C, 60 % Luftfeuchte und 760 mm Hg.

### 3.2.5 Energiebilanz

Die Messung des Bruttoenergiegehalts von Futter, Futterresten und Trockenkot erfolgte bombenkalorimetrisch (IKA-Kalorimeter C4000). Der Bruttoenergiegehalt des Lämmerharns wurde nach folgender Formel von SCHIEMANN ET AL. (1971B) berechnet:

$$\text{Bruttoenergiegehalt (Mcal)} = (2,66 h_1) + (7,52 h_2) \quad (\pm 5,2 \%) \quad \text{mit } h_1 = \text{N (g)} \text{ und } h_2 = \text{C (g)}$$

Die Energieretention der Versuchstiere wurde aus der N-/C-Bilanz inklusive Gaswechsel mit Hilfe der Faktoren nach SCHIEMANN ET AL. (1971B) berechnet.

### 3.2.6 Mikrobielle Proteinsynthese

Im aufgetauten, flüssigen Harn wurden die Gehalte der Purinmetaboliten Allantoin, Xanthin, Hypoxanthin und Harnsäure ermittelt. Nach vorangegangener Hydrolyse des Allantoins zu Glyoxylsäure und weitergehender Umsetzung zu Dinitrophenylhydrazon konnte unter Verwendung einer Reversed-Phase-HPLC-Chromatographie und Fluoreszenzdetektion mittels VIS-Detektors nach der Methode von CHEN ET AL. (1993) der Allantoingehalt bestimmt werden. Die Oxypuringehalte wurden nach dem HPLC-Verfahren VON BALCELLS ET AL. (1992) mit Hilfe einer Reversed Phase Chromatographie und Dioden-Array-Detektion analysiert. Der mikrobielle N-Ertrag (g/d) wurde nach CHEN ET AL. (1992) berechnet.

### 3.2.7 Flüchtige Fettsäuren

Nach einer in vitro Inkubation im Hohenheimer Futterwerttest nach STEINGAß UND MENKE (1986) wurden die Kolbenprober nach 24 h einer zehn minütigen Eiswasserbehandlung unterzogen, um den Fermentationsprozess zu stoppen. Danach schloss sich eine Zentrifugierung der Inokula über 20 Minuten bei 4 °C und 3500 U/min an. Der gewonnene Überstand wurde abpipettiert und bis zur weiteren Analyse bei -20 °C tiefgefroren. Nach dem Wiederauftauen wurde jeweils 1 ml der Inokulaüberstände mit 0,1 ml Standardlösung, bestehend aus 1,25 ml Methylvaleriansäure, gelöst in 100 ml konzentrierter Ameisensäure, versetzt und eine Vakuumdestillation durchgeführt.

Die Bestimmung der FFS-Konzentration erfolgte gaschromatographisch mit einem HEWLETT PACKARD, 6890 Plus GC System, wobei die Fettsäuren über eine Kapillarsäule (HEWLETT PACKARD FFAP 0,52 µm, 25 m) getrennt und mit einem Flammenionisationsdetektor ermittelt wurden. Sowohl Injektions- als auch Detektor-temperatur betragen 260 °C, die Ofentemperatur lag zwischen 80 und 205 °C. Als Trägergas wurde Helium (5.0, 1,5 ml/min) verwendet. Mit Hilfe eines automatischen Probengebers (HEWLETT PACKARD 7683) wurde jeweils 1 µl des Vakuumdestillats in den Gaschromatographen eingespritzt. Für die Eichung wurde ein interner FFS-Standard benutzt.

### 3.2.8 Statistische Auswertung

Die Varianzanalyse der Parameter aus der Futteraufnahme, der scheinbaren Verdaulichkeit der Rohnährstoffe, der Stickstoff- und Energiebilanz, der Methanproduktion der mikrobiellen Proteinsynthese sowie der FFS erfolgte mit der Methode GLM-procedure von SAS in der Version 8.02. Das Modell beinhaltete die Effekte von Kohlenhydrat- und Proteinquelle sowie die dazugehörige Wechselwirkung zwischen diesen beiden. Die LS-Means (least square means)

## Kapitel 3

---

wurden berechnet und mit der Option PDIFF (probability of difference) unter Verwendung des Scheffé-Tests ein Vergleich der Gruppenmittelwerte über die sechs Behandlungsstufen durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf  $p < 0,05$  festgelegt.

### 3.3 Ergebnisse

#### 3.3.1 Chemische Zusammensetzung der Ration

Die sechs Versuchsrationen (dargestellt in Tab. 27) wiesen vergleichbare Gehalte an XA, XP, XF und XX auf und zeigten eine gute Übereinstimmung mit den beabsichtigten Werten (siehe Kapitel 3.2.2). Die auf dem langsam abbaubaren Kohlenhydratträger basierenden Rationen (LL, LM, LS) enthielten 2,5 bis 2,9 % mehr XL aufgrund des höheren XL-Gehaltes von Körnermais gegenüber Erbsen. Die umsetzbare Energie der schnell fermentierbaren Rationen (SL, SM, SS) fiel etwas geringer aus als prognostiziert, jedoch auf vergleichbarem Niveau mit den übrigen Rationen.

Tabelle 27: Nährstoff- und Energiegehalte der Rationen

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS
Synchronitätsstufe	syn	med	asy	asy	med	syn
Rohasche ( in % TM)	6,3	6,4	6,3	6,7	6,7	6,4
Rohprotein ( in % TM)	15,7	15,7	16,0	16,1	16,1	16,3
Rohfett ( in % TM)	6,1	6,3	6,2	3,5	3,4	3,6
Rohfaser (in % TM)	8,1	8,3	8,8	8,7	9,3	9,1
N-freie Extraktstoffe ( in % TM)	63,8	63,3	62,7	65,0	64,5	64,6
Umsetzbare Energie (in MJ/kg TM)*	11,9	12,0	11,9	11,5	11,8	11,7

\*Berechnet aus der Gasbildung nach HFT (STEINGAß UND MENKE, 1986)

#### 3.3.2 Scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe

Tabelle 28 zeigt die scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe in Abhängigkeit von den verwendeten CHO- und XP- bzw. N-Quellen. Da ein Tier aufgrund einer Klauenverletzung den Versuch nicht beenden konnte, wird der SEM bei den in vivo Versuchen für die Ration LS separat ausgewiesen.

Die Verdaulichkeit der organischen Substanz bewegte sich mit 78,3 bis 80,7 % auf einem einheitlichen Niveau ohne signifikante Unterschiede zwischen den Futterrationen mit Ausnahme der Ration SL mit 81,4 % gegenüber SM mit 80,0 %.

Die CHO-Quelle Körnermais führte mit im Mittel 72,4 % zu einer signifikant höheren Rohproteinverdaulichkeit im Vergleich zur Erbsen-Stärke-Zuckermischung mit 69,8 %. Die Rationen mit intermediär abbaubarer Proteinquelle zeigten mit im Mittel 69,1 % eine signifikant niedrigere Verdaulichkeit im Vergleich zu den langsam abbaubaren (72,3 %) und eine

## Kapitel 3

tendenziell niedrigere Verdaulichkeit des Rohproteins gegenüber den Rationen mit schnell abbaubaren Proteinträgern (71,9 %).

Für das Rohfett konnte ebenfalls eine signifikant höhere mittlere Verdaulichkeit der Körnermaisvarianten (76,7 %) gegenüber den Rationen mit schnell abbaubarer CHO-Quelle (67,4 %) beobachtet werden. Die Wechselwirkung zwischen CHO- und Proteinquelle besaß bei diesem Parameter ebenfalls signifikanten Charakter.

Die Rohfaserverdaulichkeit der Rationen mit langsam abbaubarer CHO-Quelle differierte mit im Mittel 35,2 % signifikant gegenüber den Rationen mit schnell abbaubarer CHO-Quelle (49,9 %).

Alle Rationen wiesen eine vergleichbare Verdaulichkeit der N-freien Extraktstoffe mit 84,5 bis 89,1 % auf. Zwischen den Rationen SL mit 89,1 % und SM mit 84,5 % bestand ein signifikanter Unterschied.

Signifikante Effekte der Synchronisierung (LS nach LL bzw. SL nach SS) auf die Verdaulichkeit der einzelnen Rohnährstoffe waren nicht zu erkennen.

Tabelle 28: Prozentuale scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe (LS Means + SEM)

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS	P<0,05				
	syn	Med	asy	asy	med	syn	SEM	SEM <sub>LS</sub>	CHO	XP	CHO x XP
Organische Masse	80,7 <sup>ab</sup>	78,3 <sup>ab</sup>	79,4 <sup>ab</sup>	81,4 <sup>a</sup>	80,0 <sup>b</sup>	80,4 <sup>ab</sup>	0,84	0,92	n.s.	n.s.	n.s.
Rohprotein	74,2 <sup>ac</sup>	69,5 <sup>b</sup>	73,6 <sup>c</sup>	70,4 <sup>b</sup>	68,7 <sup>b</sup>	70,4 <sup>bc</sup>	1,07	1,18	**	**	n.s.
Rohfett	71,2 <sup>ac</sup>	83,3 <sup>b</sup>	75,7 <sup>ab</sup>	68,4 <sup>ac</sup>	62,3 <sup>c</sup>	71,5 <sup>ac</sup>	3,89	4,26	**	n.s.	**
Rohfaser	38,5 <sup>a</sup>	33,2 <sup>a</sup>	33,8 <sup>a</sup>	49,2 <sup>b</sup>	51,6 <sup>b</sup>	49,0 <sup>b</sup>	2,79	3,05	**	n.s.	n.s.
N-freie Extraktstoffe	87,7 <sup>ab</sup>	85,6 <sup>ab</sup>	86,4 <sup>ab</sup>	89,1 <sup>a</sup>	84,5 <sup>b</sup>	87,8 <sup>ab</sup>	1,53	1,68	n.s.	n.s.	n.s.

### 3.3.3 Futteraufnahme

Die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme der Lämmer lag bei 1013 g und ist für die einzelnen Rationen aus Tabelle 29 ersichtlich. Die absolute tägliche Futteraufnahme der Lämmer wies signifikante Unterschiede hinsichtlich der Proteinquelle und der Wechselwirkung zwischen Protein- und CHO-Quelle auf. Um den Einfluss der Lebendmasse auf die Futteraufnahme zu eliminieren, wurde die Futteraufnahme auf das metabolische Lebendgewicht der Tiere bezogen, woraus zwar ein signifikanter Unterschied zwischen Rationen mit langsamer (79,4g/kg met. LM) im Vergleich zu schnell abbaubarer CHO-Quelle (82,8g/kg met LM) resultierte, für die einzelnen Rationen jedoch keine signifikant unterschiedliche Futteraufnahme zueinander belegt werden konnte.

## Kapitel 3

Tabelle 29: Futteraufnahme (FA) in der Trockenmasse (LS Means + SEM)

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS	P<0,05				
	syn	med	asy	asy	med	syn	SEM	SEM <sub>LS</sub>	CHO	XP	CHO x XP
Futteraufnahme g/d	1007 <sup>a</sup>	1043 <sup>b</sup>	960 <sup>c</sup>	1044 <sup>b</sup>	1023 <sup>ab</sup>	998 <sup>a</sup>	12,5	13,7	n.s.	**	**
FA in g/kg met. LM	79,5 <sup>a</sup>	79,3 <sup>a</sup>	79,5 <sup>a</sup>	82,3 <sup>a</sup>	82,9 <sup>a</sup>	83,1 <sup>a</sup>	1,76	1,93	**	n.s.	n.s.

### 3.3.4 N-Bilanz

Der Einfluss der Rationszusammensetzung auf die Parameter der N-Bilanz kann Tab. 30 entnommen werden. Bei der N-Aufnahme trat sowohl ein signifikanter Effekt der CHO- als auch der N-Quelle auf, welcher bei ersterer auf leicht niedrigere Rations-N-Gehalte aller drei Körnermaisvarianten gegenüber den Erbsen-Stärke-Zuckerrationen zurückzuführen ist. Gleichfalls ergab sich ein geringfügig höherer N- bzw. XP-Gehalt bei den Rationen LS und SS, welcher in Verbindung mit der ebenfalls bei denselben Rationen aufgetretenen höchsten Futteraufnahme bezogen auf metabolische Lebendmasse eine signifikante Beziehung zwischen Behandlung und N-Quelle verursachte.

Tabelle 30: N-Bilanz in g N pro Tag bezogen auf met. LM (LS Means + SEM)

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS	P<0,05				
	syn	med	asy	asy	Med	syn	SEM	SEM <sub>LS</sub>	CHO	XP	CHO x XP
N-Aufnahme	2,02 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	2,11 <sup>ab</sup>	2,09 <sup>ab</sup>	2,09 <sup>ab</sup>	2,19 <sup>b</sup>	0,04	0,04	**	**	n.s.
Kot	0,52 <sup>a</sup>	0,61 <sup>bc</sup>	0,56 <sup>ab</sup>	0,61 <sup>bc</sup>	0,65 <sup>c</sup>	0,65 <sup>c</sup>	0,03	0,03	**	**	n.s.
Harn	0,74 <sup>a</sup>	0,75 <sup>ab</sup>	0,83 <sup>bc</sup>	0,74 <sup>a</sup>	0,78 <sup>ab</sup>	0,88 <sup>c</sup>	0,03	0,03	n.s.	**	n.s.
Retention	0,76 <sup>a</sup>	0,65 <sup>b</sup>	0,72 <sup>ab</sup>	0,74 <sup>ab</sup>	0,66 <sup>ab</sup>	0,66 <sup>ab</sup>	0,04	0,04	n.s.	**	n.s.

Die Kot-N-Ausscheidung verzeichnete bei der CHO-Quelle mit langsamer Abbaurate einen signifikant niedrigeren Mittelwert von 0,56 g N/kg met. LM im Vergleich zum Mittelwert der Rationen mit schneller CHO-Abbaugeschwindigkeit (0,64 g N/kg met. LM). Auch die Proteinquelle übte einen signifikanten Einfluss aus. So wiesen die Rationen mit langsam abbaubarer Proteinquelle jeweils die geringste Kot-N-Ausscheidung mit 0,52 bei LL bzw. 0,61 g N/kg met. LM bei SL auf, wobei sich die Ration LL gegenüber allen anderen Rationen mit Ausnahme von LS signifikant verhielt.

Die N-Verluste im Harn bewegten sich auf einem höheren Niveau als im Kot. Eine höhere XP-Abbaurate führte sowohl mit langsam als auch mit schnell fermentierbaren CHO zu einer verstärkten Harn-N-Ausscheidung mit 0,83 bei LS bzw. 0,88 g N/kg met. LM bei SS, was jeweils innerhalb der CHO-Quelle zwar einen signifikanten Unterschied zwischen synchronen

## Kapitel 3

und asynchronen Rationen bedeutete, jedoch jeweils in entgegengesetzter Richtung und somit eine Anpassung der Abbauraten von CHO und N keine verbesserte N-Effizienz nach sich zog.

Auch bei der N-Retention wurde unabhängig von der CHO-Quelle und der Synchronisierung jeweils bei den Rationen mit hohem Proteinbypass durch geringere Ausscheidungen mit 0,76 bzw. 0,74 g N/kg met. LM die höchste N-Retention erzielt.

Signifikante Wechselwirkungen zwischen CHO- und Proteinquelle traten bei der N-Bilanz nicht auf.

### 3.3.5 Energiebilanz

Die Energiebilanz der Lämmer pro Tag - bezogen auf metabolische Lebendmasse - ist für die sechs Synchronisationsvarianten in Tabelle 31 dargestellt.

Tabelle 31: Energiebilanz (LS Means + SEM)

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS	P<0,05				
	syn	med	asy	asy	med	syn	SEM	SEM <sub>LS</sub>	CHO	XP	CHO x XP
MJ/kg met. LM/d											
Energieaufnahme	1,47 <sup>a</sup>	1,46 <sup>a</sup>	1,48 <sup>a</sup>	1,50 <sup>a</sup>	1,44 <sup>a</sup>	1,47 <sup>a</sup>	0,03	0,03	n.s.	n.s.	n.s.
Kot	0,33 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,32 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>	0,02	0,02	n.s.	n.s.	n.s.
Harn	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,00	0,00	n.s.	n.s.	n.s.
Methan	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>	0,07 <sup>b</sup>	0,06	0,07	**	n.s.	n.s.
Energieretention	0,42 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,45 <sup>a</sup>	0,02	0,02	n.s.	n.s.	n.s.
RPE	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>	0,11 <sup>ab</sup>	0,11 <sup>ab</sup>	0,10 <sup>ab</sup>	0,10 <sup>ab</sup>	0,01	0,01	n.s.	n.s.	n.s.
RFE	0,31 <sup>ab</sup>	0,29 <sup>ab</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,32 <sup>ab</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,35 <sup>b</sup>	0,02	0,02	n.s.	n.s.	n.s.
RPE/RFE	0,38 <sup>ab</sup>	0,33 <sup>ac</sup>	0,42 <sup>b</sup>	0,34 <sup>abc</sup>	0,35 <sup>abc</sup>	0,28 <sup>c</sup>	0,03	0,03	**	n.s.	**
Wärme	0,64 <sup>ab</sup>	0,64 <sup>ab</sup>	0,67 <sup>a</sup>	0,65 <sup>ab</sup>	0,61 <sup>bc</sup>	0,58 <sup>c</sup>	0,02	0,02	**	n.s.	**

In der Bruttoenergieaufnahme sowie bei den Energieverlusten aus Kot und Harn wurden keine signifikanten Behandlungseffekte festgestellt.

Die CHO-Quelle Körnermais führte zu einer signifikant niedrigeren mittleren CH<sub>4</sub>-Produktion von 0,04 MJ/kg met. LM im Vergleich zu 0,06 MJ/kg met. LM bei den Rationen mit schneller CHO-Abbaurrate. Innerhalb der CHO-Quelle war bei den Bypass-CHO-Rationen kein Effekt der Synchronisierung erkennbar. Dagegen nahmen bei den Rationen mit schneller CHO-Abbaurrate die CH<sub>4</sub>-Verluste von asynchron (0,05 MJ/kg met. LM) über intermediär (0,06 MJ/kg met. LM) zu synchron (0,07 MJ/kg met. LM) kontinuierlich zu, wobei die Unterschiede zwischen SL und SM bzw. SL und SS statistisch abgesichert werden konnten. Die Energieretention (RE) sowie die retinierte Fett-(RFE) und Proteinenergie (RPE) wiesen keine signifikanten Unterschiede sowohl hinsichtlich verwendeter CHO- und Proteinquelle als auch deren Wechselwirkung auf,

## Kapitel 3

wobei die Signifikanz der Proteinquelle mit  $P < 0,056$  nur knapp verfehlt wurde. Numerisch betrachtet, konnte bei einer Synchronisierung der Ration sowohl bei der RE als auch bei RFE eine Zunahme der Retention gegenüber asynchronen Futterrationen festgestellt werden. Die höchste RPE erzielten mit 0,11 MJ/kg met. LM die Rationen SL, LS und LL, letztere hob sich von der Ration LM mit 0,10 MJ/kg met. LM signifikant ab.

Die CHO-Quelle Körnermais steigerte signifikant das Verhältnis RPE/RFE auf im Mittel 0,38 gegenüber den CHO-Quellen Erbsen-Stärke-Zucker mit 0,32. Rationen mit langsamer CHO-Abbaurrate wiesen zugleich eine signifikant höhere mittlere Wärmeproduktion von 0,65 MJ/kg met. LM gegenüber Rationen mit schneller CHO-Abbaugeschwindigkeit auf (0,61 MJ/kg met. LM). Beim RPE/RFE-Verhältnis konnte außerdem ein Effekt der Synchronisierung beobachtet werden mit 0,42 bzw. 0,34 bei den asynchronen Rationen LS und SL zu 0,38 bzw. 0,28 bei den synchronen Rationen LL und SS. Darüber hinaus bestand zwischen CHO- und Proteinquelle beim RPE/RFE-Verhältnis eine signifikante Wechselwirkung. So verzeichnete die Ration LS mit 0,42 den höchsten Anteil der RPE an der RFE, während die Ration SS den niedrigsten mit 0,28 aufwies. Bei der Wärmeproduktion zeigte sich ebenfalls eine signifikante Wechselwirkung zwischen CHO- und Proteinquelle mit der höchsten Wärmeproduktion von 0,67 MJ/kg met. LM bei der Ration LS, während die Ration SS die niedrigste Wärmeproduktion mit 0,58 MJ/kg met. LM besaß. Die synchronen Rationstypen LL und SS führten zu jeweils geringerer Wärmebildung mit 0,64 bzw. 0,58 MJ/kg met. LM gegenüber den asynchronen Rationsvarianten.

### 3.3.6 Energiebewertung

Die Bewertung der Energiestufen der Versuchsrationen ist aus Tabelle 32 ersichtlich.

Tabelle 32: Energiebewertung in MJ/kg TM (LS Means + SEM)

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS	P<0,05				
	syn	med	asy	asy	med	syn	SEM	SEM <sub>LS</sub>	CHO	XP	CHO x XP
Bruttoenergie	18,6 <sup>a</sup>	18,4 <sup>a</sup>	18,6 <sup>a</sup>	18,2 <sup>ab</sup>	17,3 <sup>c</sup>	17,7 <sup>bc</sup>	0,24	0,26	**	n.s.	n.s.
Verdaulichkeit d (%)	77,9 <sup>a</sup>	76,0 <sup>a</sup>	76,5 <sup>a</sup>	78,7 <sup>a</sup>	76,1 <sup>a</sup>	77,0 <sup>a</sup>	1,06	1,16	n.s.	n.s.	n.s.
Verdauliche Energie	14,5 <sup>a</sup>	14,0 <sup>ab</sup>	14,2 <sup>a</sup>	14,3 <sup>a</sup>	13,2 <sup>b</sup>	13,7 <sup>ab</sup>	0,29	0,32	**	**	n.s.
Umsetzbarkeit q (%)	72,2 <sup>ab</sup>	70,5 <sup>ab</sup>	71,3 <sup>ab</sup>	72,7 <sup>a</sup>	69,4 <sup>b</sup>	69,9 <sup>ab</sup>	1,04	1,14	n.s.	n.s.	n.s.
Umsetzbare Energie	13,4 <sup>a</sup>	13,0 <sup>ab</sup>	13,3 <sup>a</sup>	13,2 <sup>a</sup>	12,0 <sup>c</sup>	12,4 <sup>bc</sup>	0,28	0,30	**	**	n.s.
Verwertung $k_{pf}$ (%)	65,7 <sup>ab</sup>	64,3 <sup>ab</sup>	59,9 <sup>a</sup>	65,1 <sup>ab</sup>	67,8 <sup>bc</sup>	73,0 <sup>c</sup>	2,29	2,51	**	n.s.	**
Nettoenergie	8,8 <sup>ab</sup>	8,3 <sup>ab</sup>	8,0 <sup>a</sup>	8,6 <sup>ab</sup>	8,2 <sup>ab</sup>	9,0 <sup>b</sup>	0,35	0,38	n.s.	n.s.	n.s.

Der Bruttoenergiegehalt der Rationen mit langsamer CHO-Abbaugeschwindigkeit hob sich mit 18,5 MJ/kg TM signifikant von den Rationen mit schneller CHO-Abbaurrate mit 17,7 MJ/kg TM

ab. Numerisch betrachtet, besaßen die Rationen mit mittlerer Proteinabbaurate jeweils die geringste Bruttoenergie.

Bei der Verdaulichkeit traten keine signifikanten Unterschiede auf, jedoch konnte tendenziell die höchste Verdaulichkeit jeweils bei den langsam abbaubaren Proteinquellen beobachtet werden. Bei der verdaulichen Energie übten sowohl die CHO- als auch die XP-Quelle einen signifikanten Einfluss auf die verdauliche Energie aus. So wiesen die auf der CHO-Quelle Körnermais basierenden Rationen mit 14,2 MJ/kg TM eine signifikant höhere verdauliche Energie auf als die Erbsen-Stärke-Zuckerrationen mit 13,7 MJ/kg TM. Auch die Rationen mit langsam abbaubarer XP-Quelle erzielten mit 14,4 MJ /kg TM die höchste DE, während die Synchronisierung ohne signifikante Auswirkungen auf die DE blieb.

Tendenziell ( $P < 0,061$ ) ergab sich die höchste Umsetzbarkeit ( $q$ ) bei langsam abbaubaren Proteinträgern mit 72,5 % im Vergleich zu schnell abbaubaren mit 70,5 % und intermediären mit 70,0 %. Auf der Ebene der umsetzbaren Energie zeigten wiederum die Rationen mit langsamer CHO- bzw. XP-Quelle die signifikant höchsten Energiegehalte.

Die Verwertung der ME für den Protein- und Fettansatz ( $k_{pf}$ ) schwankte sehr stark und wurde signifikant von der CHO-Quelle und der Wechselwirkung zwischen CHO- und Proteinquelle beeinflusst. Demnach wiesen die Rationen mit langsamer CHO-Abbaugeschwindigkeit mit durchschnittlich 63,3 % eine signifikant schlechtere Verwertung auf als die schnell abbaubaren Erbsen-Stärke-Zucker-Varianten mit im Mittel 68,6 %. Die synchronen Rationen LL und SS unterschieden sich mit 65,7 % im Vergleich zu 73,0 % signifikant voneinander, zugleich konnte bei beiden innerhalb der CHO-Quelle die jeweils höchste Verwertung beobachtet werden. Die asynchronen Rationen LS und SL konnten nur 59,9 bzw. 65,1 % der ME für den Körperansatz nutzen, wobei die Differenz zwischen SL und SS statistisch belegt werden konnte.

Auf der Stufe der Nettoenergie ergaben sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich CHO- und XP-Quelle oder deren Wechselwirkung. Jedoch erreichten die synchronen Rationen LL und SS tendenziell jeweils die höchste Nettoenergie mit 8,8 und 9,9 MJ/kg TM.

### 3.3.7 Methanproduktion

Verschiedene Bezugsgrößen der CH<sub>4</sub>-Produktion sind in Tabelle 33 zusammengefasst.

Tabelle 33: CH<sub>4</sub>-Produktion (LS Means + SEM)

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS	P<0,05				
	Synchronitätsstufe	syn	med	asy	asy	med	syn	SEM	SEM <sub>LS</sub>	CHO	XP
l CH <sub>4</sub> /d	14,0 <sup>ab</sup>	14,3 <sup>ab</sup>	11,4 <sup>a</sup>	16,8 <sup>bc</sup>	18,4 <sup>bc</sup>	20,3 <sup>c</sup>	1,79	1,96	**	n.s.	n.s.
MJ CH <sub>4</sub> /d	0,56 <sup>ab</sup>	0,57 <sup>ab</sup>	0,45 <sup>a</sup>	0,67 <sup>bc</sup>	0,73 <sup>bc</sup>	0,81 <sup>c</sup>	0,07	0,08	**	n.s.	n.s.
l CH <sub>4</sub> / met. LM	1,11 <sup>ab</sup>	1,09 <sup>ab</sup>	0,94 <sup>a</sup>	1,33 <sup>abc</sup>	1,49 <sup>bc</sup>	1,67 <sup>c</sup>	0,14	0,16	**	n.s.	n.s.
l CH <sub>4</sub> /kg TM	14,0 <sup>ab</sup>	13,7 <sup>ab</sup>	11,9 <sup>a</sup>	16,1 <sup>abc</sup>	18,0 <sup>bc</sup>	20,3 <sup>c</sup>	1,79	1,97	**	n.s.	n.s.
CH <sub>4</sub> in % GE	2,97 <sup>ab</sup>	2,94 <sup>a</sup>	2,53 <sup>a</sup>	3,51 <sup>abc</sup>	4,09 <sup>bc</sup>	4,53 <sup>c</sup>	1,04	1,14	**	n.s.	n.s.
CH <sub>4</sub> in % DE	3,81 <sup>a</sup>	3,87 <sup>a</sup>	3,29 <sup>a</sup>	4,46 <sup>ab</sup>	5,39 <sup>b</sup>	5,87 <sup>b</sup>	0,49	0,53	**	n.s.	n.s.

Generell bewegte sich die emittierte CH<sub>4</sub>-Menge in allen sechs Rationen auf einem sehr niedrigen Niveau von 11,4 bis 20,3 l/d was einer absoluten Energiemenge von 0,45 bis 0,81 MJ/d entspricht.

Die CHO-Quelle übte über alle Bezugsgrößen hinweg einen signifikanten Einfluss auf die CH<sub>4</sub>-Synthese aus. Rationen mit einem hohen CHO-Bypass wiesen mit 13,2 l CH<sub>4</sub>/kg TM eine signifikant niedrigere CH<sub>4</sub>-Produktion auf im Vergleich zu Rationen mit CHO schneller Abbaugeschwindigkeit (18,2 l CH<sub>4</sub>/kg TM). Außerdem stieg der CH<sub>4</sub>-Ausstoss mit zunehmender Angleichung der Abbauraten von CHO und XP numerisch mit 2,53 über 2,94 auf 2,97 % der aufgenommenen GE bei Mais als CHO-Quelle wie auch bei den Erbsen-Stärke-Zuckerrationen mit 3,51 über 4,09 auf 4,53 % der aufgenommenen GE. Da die CHO-Quelle signifikante Unterschiede hinsichtlich der Verdaulichkeit der Rohnährstoffe XP, XL und XF ergeben hatte (siehe Kapitel 3.3.2), wurde, um einen Einfluss dieser Faktoren auszuschließen, die emittierte CH<sub>4</sub>-Menge zusätzlich auf die DE bezogen. Es zeigte sich hierbei eine numerische Steigerung der CH<sub>4</sub>-Produktion von asynchroner zu synchroner Rationsgestaltung (3,29 vs. 3,81 % bzw. 4,46 vs. 5,87 %), wobei vergleichbar zur CH<sub>4</sub>-Synthese bezogen auf Basis der GE zwischen intermediärer und synchroner Variante bei den Bypass-CHO-Rationen nur geringfügige Unterschiede festgestellt werden konnten.

Eine gezielte CH<sub>4</sub>-Reduktion allein durch Proteinträger mit langsamer Abbaurrate wurde nicht erreicht, signifikante Wechselwirkungen zwischen CHO- und Proteinquelle traten nicht auf.

### 3.3.8 Mikrobielle Proteinsynthese

Einen Überblick über die mikrobielle Proteinsynthese der Versuchsrationen gibt Tabelle 34.

Tabelle 34: Mikrobielle Proteinsynthese (LS-Means + SEM)

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS	P<0,05				
	syn	med	asy	asy	med	syn	SEM	SEM <sub>LS</sub>	CHO	XP	CHO x XP
Purinexkretion mmol/d	25,1	25,1	22,3	25,7	26,1	24,3	1,29	1,41	n.s.	n.s.	n.s.
Purinexkr. mmol/kg TM	25,3	24,1	23,2	24,6	26,3	24,3	1,23	1,35	n.s.	n.s.	n.s.
g N / Tag	18,2 <sup>a</sup>	18,2 <sup>a</sup>	16,2 <sup>a</sup>	18,7 <sup>a</sup>	18,9 <sup>a</sup>	17,7 <sup>a</sup>	0,94	1,03	n.s.	n.s.	n.s.
g N / kg TM	18,4 <sup>a</sup>	17,5 <sup>a</sup>	16,9 <sup>a</sup>	17,9 <sup>a</sup>	19,1 <sup>a</sup>	17,7 <sup>a</sup>	0,90	0,98	n.s.	n.s.	n.s.
g N / kg OM	19,6 <sup>a</sup>	18,7 <sup>a</sup>	18,0 <sup>a</sup>	19,1 <sup>a</sup>	20,5 <sup>a</sup>	18,9 <sup>a</sup>	0,96	1,05	n.s.	n.s.	n.s.
g N / kg DOM	24,3 <sup>a</sup>	24,0 <sup>a</sup>	22,8 <sup>a</sup>	23,5 <sup>a</sup>	25,7 <sup>a</sup>	23,5 <sup>a</sup>	1,29	1,41	n.s.	n.s.	n.s.
g N / l CH <sub>4</sub>	1,3 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>	1,1 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>	0,20	0,22	n.s.	n.s.	n.s.

Die mikrobielle Syntheseleistung bewegte sich mit im Mittel 16,2 bis 18,9 g N/d auf einem einheitlichen Niveau. Weder in der absolut gebildeten mikrobiellen N-Menge pro Tag, noch in der mikrobiellen Wachstumseffizienz bezogen auf kg TM, OM oder DOM zeigten sich signifikante Auswirkungen hinsichtlich der verabreichten CHO- und Proteinquellen sowie deren Wechselwirkung. Die Größe verdaute organische Masse (DOM) bezieht sich in obiger Tabelle auf den gesamten Verdauungstrakt, deshalb kann sie nicht als Kriterium der Pansenverdauung herangezogen werden. Deshalb wurde die CH<sub>4</sub>-Produktion als Maß für die Fermentationsleistung im Pansen gewählt, wobei bei der synthetisierten N-Menge bezogen auf l CH<sub>4</sub> ebenfalls keine signifikanten Behandlungseffekte erreicht werden konnten. Ein Einfluss der Synchronisierung auf die gesamten in Tab. 34 dargestellten Parameter der mikrobiellen Proteinsynthese konnte nicht nachgewiesen werden.

### 3.3.9 Flüchtige Fettsäuren

Tabelle 35: Konzentration flüchtiger Fettsäuren in vitro (mmol/l) (LS-Means + SEM)

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS	P<0,05			
	syn	med	asy	asy	med	syn	SEM	CHO	XP	CHO x XP
Essigsäure	21,5 <sup>a</sup>	21,3 <sup>a</sup>	21,4 <sup>a</sup>	23,3 <sup>b</sup>	24,9 <sup>c</sup>	23,0 <sup>b</sup>	0,39	**	n.s.	**
Propionsäure	11,7 <sup>a</sup>	11,4 <sup>a</sup>	11,2 <sup>a</sup>	12,4 <sup>b</sup>	12,7 <sup>b</sup>	11,7 <sup>ac</sup>	0,18	**	**	n.s.
Buttersäure	5,7 <sup>a</sup>	5,9 <sup>ab</sup>	5,8 <sup>a</sup>	5,9 <sup>ab</sup>	6,2 <sup>b</sup>	5,9 <sup>a</sup>	0,10	**	n.s.	n.s.
Valeriansäure	0,7 <sup>a</sup>	0,6 <sup>b</sup>	0,5 <sup>c</sup>	0,8 <sup>d</sup>	0,7 <sup>a</sup>	0,6 <sup>b</sup>	0,01	**	**	n.s.
Isobuttersäure	0,5 <sup>a</sup>	0,4 <sup>b</sup>	0,3 <sup>c</sup>	0,4 <sup>b</sup>	0,3 <sup>d</sup>	0,3 <sup>c</sup>	0,01	**	**	n.s.
Isovaleriansäure	1,1 <sup>a</sup>	1,0 <sup>b</sup>	0,8 <sup>c</sup>	1,0 <sup>b</sup>	0,8 <sup>d</sup>	0,7 <sup>c</sup>	0,02	**	**	n.s.
Gesamt FFS	41,2 <sup>ac</sup>	40,6 <sup>ac</sup>	40,0 <sup>a</sup>	43,8 <sup>bc</sup>	45,6 <sup>b</sup>	42,2 <sup>c</sup>	0,68	**	**	n.s.

## Kapitel 3

---

Die Konzentration der einzelnen flüchtigen Fettsäuren (FFS) *in vitro* sowie der Gesamtkonzentration sind in Tabelle 35 aufgeführt.

Auf eine zusätzliche prozentuale Darstellung der Ergebnisse wurde verzichtet, da die Ergebnisse gleichbedeutend ausfielen. Die Essigsäurekonzentration dominierte bei allen Rationstypen mit 21,3 bis 24,9 mmol/l, gefolgt von Propionsäure mit 11,2 bis 12,7 mmol/l und Buttersäure mit 5,7 bis 6,2 mmol/l. Die CHO-Quelle besaß einen signifikanten Einfluss auf die einzelnen FFS. Rationen mit langsam abbaubaren CHO ergaben niedrigere FFS-Konzentrationen auf als Rationen mit schneller CHO-Abbaurrate, ausgenommen die beiden Isosäuren. Diese führten in den Maisrationen bei Isobuttersäure mit 0,4 mmol/l und bei Isovaleriansäure mit 1,0 mmol/l zu signifikant höheren FFS-Konzentrationen als die auf Erbsen-Stärke-Zucker basierenden Rationen mit 0,3 bzw. 0,8 mmol/l.

Auch die Proteinquelle übte, abgesehen bei Essig- und Buttersäure, einen signifikanten Einfluss auf die Konzentration der einzelnen flüchtigen Fettsäuren, sowie auch auf die Gesamtkonzentration aus. So wurden bei Inkubation von Rationen mit langsam abbaubaren Proteinquellen signifikant höhere FFS-Konzentrationen als bei Rationen mit schnell abbaubaren XP-Trägern gemessen.

Die synchronen Rationen SS und LL differierten signifikant hinsichtlich ihrer Essig-, Valerian-, Isobutter-, und Isovaleriansäurekonzentrationen. Ausschließlich bei den Rationen mit Bypass CHO-Quelle nahmen die FFS-Konzentrationen von asynchroner zu synchroner Rationsgestaltung zu, während bei schnell abbaubaren CHO die FFS-Konzentrationen von SL nach SS abnahmen.

Eine signifikante Wechselwirkung zwischen CHO- und XP-Quelle zeigte sich bei der Essigsäurekonzentration.

### 3.4 Diskussion

Die synchrone Rationsformulierung zeigte keine signifikanten Veränderungen bezüglich der Verdaulichkeit der Rohnährstoffe. Dieses Ergebnis stimmt überein mit den Resultaten von WITT ET AL. (1999A). Dagegen führte bei KELLER (2003) die Synchronisierung auf Basis Grassilage zu einer verbesserten Verdaulichkeit von OM, XP und NfE, und auf Basis Maissilage hob sich die XL- und XF-Verdaulichkeit ebenfalls signifikant von der asynchronen Variante ab. Jedoch schreibt KELLER (2003) diesen Effekt eher den eingesetzten Futtermitteln als dem Grad der Synchronisierung zu. Auch in der vorliegenden Arbeit resultierten aus der eingesetzten CHO-Quelle signifikante Unterschiede in der Verdaulichkeit des XL, der XF und des XP. So ist die höhere XL-Verdaulichkeit der Rationen mit Körnermais als CHO-Quelle von im Mittel 76,7 % vermutlich sowohl auf den per se höheren Fettgehalt des Körnermaises als auch auf die höhere Verdaulichkeit des XL im Körnermais nach DLG (1997) von 83 % gegenüber 62 % bei Erbsen zurückzuführen.

Zugleich könnte die um nach DLG (1997) mehr als 30 % geringere XF-Verdaulichkeit von Körnermais für die mit 35,2 % signifikant geringere XF-Verdaulichkeit der Körnermaisrationen im Vergleich zu den Erbsen-Stärke-Zucker-Rationen mit 49,9 % verantwortlich sein. Die niedrigere XF-Verdaulichkeit bestätigte sich auch in einer signifikant geringeren Essigsäureproduktion in vitro bzw. einem verengten C<sub>2</sub>/C<sub>3</sub>-Verhältnis von 1,87 gegenüber 1,94 bei den Rationen mit schnell abbaubarer CHO-Quelle. Ein weiterer Ansatzpunkt liegt im bereits erwähnten höheren XL-Gehalt des Körnermaises, der in der Gesamtration bei den Rationen LL, LM und LS im Mittel zu 6,2 % XL gegenüber 3,4 bis 3,6 % XL bei den Rationen SS, SM und SL führte. Aufgrund der begrenzten Fettverträglichkeit der Wiederkäuer von 5 bis 6 % der TM könnte demnach eine Depression der XF-Verdaulichkeit eingetreten sein (DONG ET AL., 1997; FINGER, 1999).

Eine Steigerung des Fettgehaltes der Ration kann nach MACHMÜLLER ET AL. (2006) auch die XP-Verdaulichkeit beeinflussen. So führte eine zusätzliche 2,5 % ige Fettsupplementierung zur Kontrolle von 3,1 % XL bei Lämmern zu einer signifikant höheren N-Verdaulichkeit, was im vorliegenden Versuch durch die signifikant höhere XP-Verdaulichkeit der Körnermaisrationen mit 72,4 % gegenüber den Erbsen-Stärke-Zuckerrationen mit 69,8 % bestätigt wird. Denn ausgehend vom XP-Gehalt der Erbsen und der nach DLG (1997) höheren Verdaulichkeit des Erbsen-XP (82 %) gegenüber dem Mais-XP (66 %) hätte man das gegenteilige Ergebnis erwartet.

In der hier vorgestellten Studie führte die Synchronisierung in der N-Bilanz zu keiner

signifikanten Verbesserung der N-Retention, da sich bei der synchronen Ration LL die retinierte N-Menge lediglich numerisch mit 0,76 von 0,72 g N/kg met. LM gegenüber der asynchronen Ration SL abhob, und bei den schnell abbaubaren CHO-Trägern die synchrone Variante SS mit 0,66 im Vergleich zur asynchronen Variante SL mit 0,74 g N/kg met. LM sogar erniedrigt war. Dementsprechend brachte eine Anpassung der Abbauraten keine verbesserte N-Effizienz mit sich. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von MATRAS ET AL. (1991), welche die effizienteste N-Nutzung bei Kombinationen von CHO und XP-Trägern ähnlicher ruminaler Abbaurate bei wachsenden Lämmern (30 kg LM) erzielten. So nahm in oben genannter Studie die retinierte N-Menge bei der langsam abbaubaren CHO-Quelle Sorghum zu, wenn diese mit zunehmenden Mengen langsam abbaubaren Blutmehls und Maisklebers zusammen appliziert wurde. Umgekehrt resultierte die höchste N-Retention bei Harnstoff als N-Quelle, wenn dieser mit Gerste verabreicht wurde. Anzumerken ist jedoch, dass in dieser Studie keine fortwährende Angleichung der CHO- und XP-Abbauraten nach dem Synchronismusindex bzw. über die RNB erfolgte. In einer anderen Studie mit wachsenden Lämmern beobachteten WITT ET AL. (1999A) eine signifikant höhere absolute N-Retention sowohl bei schnell asynchroner als auch bei langsam asynchroner Rationskonzeption nach dem Synchronismusindex; bezogen auf die aufgenommene N-Menge ergab sich jedoch kein signifikanter Effekt, so dass die Autoren diesen Effekt auf die höhere N-Aufnahme in diesen Behandlungsgruppen zurückführten.

In den vorliegenden Bilanzversuchen führte eine höhere XP-Abbaurrate auf Basis zunehmenden Harnstoff- und Lupineneinsatzes zu einer verstärkten Harn-N-Ausscheidung, auch in Verbindung mit schnell fermentierbaren CHO. Gleichfalls wurden von MATRAS ET AL. (1991) bei Harnstoff als N-Quelle signifikant höhere Harn-N-Ausscheidungen im Vergleich zu langsam abbaubaren N-Quellen verzeichnet.

Entscheidend für eine geringere N-Ausscheidung primär im Harn aber auch im Kot und damit eine höhere N-Retention war im eigenen Versuch allein die langsame Abbaurate des Proteinträgers, da unabhängig von der CHO-Quelle bei Rationen mit langsam fermentierbarem Protein die höchste N-Retention erzielt wurde. Dies steht im Einklang mit verschiedenen Studien, bei denen zunehmende Anteile Proteinbypass in verringerter N-Ausscheidung bei gleichzeitig erhöhter N-Retention resultierten:

So erzielten STEINGASS ET AL. (2003B) bei Gegenüberstellung von zwei Rationen mit hohem bzw. niedrigem XP-Niveau (11 und 12,3 % bzw. 14,9 und 15,4 %) sowie hoher und niedriger XP-Abbaurrate in Form von Erbsen bzw. Kartoffeleiweiß als Proteinträger jeweils die höchste N-Retention verbunden mit geringerer Harn-N-Ausscheidung bei den Rationen mit langsamer N-Abbaugeschwindigkeit. Auch ØRSKOV ET AL. (1972) konstatierten bei Lämmern, gefüttert mit

Gerste und zunehmenden Harnstoffzulagen auf bis zu 1,65 % (XP-Gehalt Ration 14,1 %), eine steigende Harn-N-Exkretion aber auch zunächst eine zunehmende N-Retention, während eine weitere Steigerung des Harnstoffeinsatzes auf 2,2 % (XP 15,6 %) einen Rückgang der N-Retention bei gleichzeitig steigender Harn-N-Exkretion zur Folge hatte. In derselben Studie wurde zusätzlich eine Gruppe mit langsam abbaubarem XP in Form von Fischmehl gefüttert, was bei einem XP-Gehalt der Ration von 14,7 % zu einer signifikant geringeren täglichen Harn-N-Ausscheidung sowie im Vergleich zu den anderen Versuchsvarianten zur höchsten täglichen N-Retention führte.

In einer Arbeit von SWANSON ET AL. (2004A) mit 46 kg schweren Hammeln wurde Casein in variierenden Anteilen (100/67:33/33:67/0) in den Pansen bzw. Labmagen zu einer Heuration schlechter Qualität (5 % XP i. TM) infundiert. Es erfolgte ein Absinken der Harn-N-Ausscheidung von 10,9 g/d bei 100 % ruminaler Infusion auf 8,0 g/d bei 33:67 %, während die Kot-N-Ausscheidung unbeeinflusst blieb. Die N-Retention stieg dagegen von 0 auf 2,9 g/d an. Zudem wurde ein quadratischer Effekt mit der größten Retention und Effizienz in Prozent der aufgenommenen N-Menge sowie in Prozent des verdauten N bei einem Verhältnis von 33 % ruminaler zu 67 % abomasaler Caseininfusion festgestellt. In einer weiteren Studie von SWANSON ET AL. (2004B) mit 34 kg schweren Hammeln erfolgten zu einer Basalration aus Mais und Luzernemehl Caseininfusionen nach dem Modell der ersten Studie. Mit zunehmender Verschiebung der Infusion in Richtung Labmagen verringerte sich auch hier die Harn-N-Ausscheidung, während sich die Kot-N-Ausscheidung in geringerem Maße erhöhte. Tendenziell konnte ebenfalls eine Steigerung der N-Retention von 5,5 g/d bei 100 % iger Panseninfusion auf 9,0 g/d bei einem Verhältnis von 33:67 % festgestellt werden, während bei 100 % iger Labmageninfusion der N-Ansatz mit 7,2 g/d wieder rückläufig war. Die Autoren begründen dies mit einem N-Defizit der Basalration an abbaubarem XP, welches bei 33 % Caseininfusion in den Pansen Peptide und AS für den mikrobiellen Bedarf bereitstellt, während höhere Mengen bereits wieder die Effizienz der N-Nutzung durch eine erhöhte Harnexkretion senken.

Aus den beschriebenen Studien geht hervor, dass sich sowohl das XP- bzw. N-Niveau der Ration als auch die im Pansen abbaubare XP- bzw. N-Menge auf die N-Retention auswirken können. Da in den Versuchsrationen mit 15,7 bis 16,3 % XP ein einheitlicher und zugleich nach WILLMS ET AL. (1991A) und ØRSKOV (1992) ausreichender XP-Gehalt für die Versorgung der Pansenmikroorganismen enthalten war, ist ein Effekt des XP-Gehaltes auf die N-Retention unwahrscheinlich. Die im Pansen abbaubare N-Menge in Prozent des XP (RDN) lag, ermittelt über den modifizierten HFT, bei den Rationen mit schnell abbaubarer CHO-Quelle bei 83-85 % und bei den Rationen mit langsamer CHO-Abbaugeschwindigkeit bei 78-80 %. Diese Werte

## Kapitel 3

---

zeigen zwar Unterschiede zwischen den CHO-Quellen, jedoch nur marginale innerhalb von diesen. Da aber unabhängig von der CHO-Quelle die höchste N-Retention jeweils in Verbindung mit einer langsam abbaubaren N-Quelle erzielt wurde, dürfte kein Defizit im RDN vorgelegen haben.

Die Rationen mit Mais als CHO-Quelle wiesen bei der Energiebewertung mit 13,2 MJ/kg TS einen signifikant höheren ME-Gehalt gegenüber 12,5 MJ/kg TS bei den Rationen mit schnell abbaubaren CHO-Quellen auf. Jedoch ergaben sich aufgrund der signifikant niedrigeren Futteraufnahme der Rationen SL, SM und SS bezogen auf die metabolische Lebendmasse der Lämmer in der Energiebilanz keine signifikanten Unterschiede in der ME-Aufnahme zwischen den CHO-Varianten.

Dennoch konnten zwischen langsam und schnell abbaubarer CHO-Quelle signifikante Unterschiede in der Verteilung der retinierten Energie auf den Protein- und Fettansatz festgestellt werden. Die unterschiedliche Verteilung der Energie steht in Verbindung mit dem Glucosestoffwechsel des Wiederkäuers. Die verwendeten Versuchsrationen können mit einem Konzentratanteil von 75 % als kraftfutterbetont bezeichnet werden. Daraus resultierte generell eine relativ hohe Propionsäurebildung im Verhältnis zu Essigsäure, insbesondere jedoch bei den Rationen mit schnell abbaubaren CHO, da Erbsen, Stärke und Zucker einer umfassenden Fermentation im Pansen unterliegen. Dies erklärt die signifikant höhere Propionsäurekonzentration von 12,3 mmol/l im Vergleich zu den Körnermaisrationen mit 11,4 mmol/l.

Die Menge an verfügbarem Propionat, Aminosäuren und Laktat bestimmt den Umfang der Glucoseversorgung über die Gluconeogenese beim Wiederkäuer (SALLMANN UND FUHRMANN, 2000). Dementsprechend ist eine verstärkte Gluconeogenese bei den Rationen SL, SM und SS zu vermuten, die zu einer Erhöhung des Glucosespiegels im Blut geführt haben könnte, wodurch wiederum die Insulinausschüttung gesteigert werden würde (SUTTON ET AL., 1986). Insulin wirkt proteinanabol (JEROCH ET AL., 2008), indem Glucose als Energie für die Proteinsynthese und damit den Muskelaufbau zur Verfügung gestellt wird. Besteht ein Überangebot an Glucose, wird diese nach Deckung des Energiebedarfs für die Proteinsynthese über das Insulin in die Synthese von Körperfett umgeleitet. Außerdem hemmt Insulin eine erneute Gluconeogenese (LÖFFLER UND PETRIDES, 1997) und die Lipolyse des Fettgewebes (LÖFFLER UND GÄBEL, 2008).

Bei den Rationen mit langsam abbaubarer CHO-Quelle ist die Bildung flüchtiger Fettsäuren tendenziell vermindert, da Körnermais hohe Mengen Bypassstärke besitzt, die erst im Dünndarm zu Glucose abgebaut werden. Daraus folgt im Vergleich zu den Rationen mit schnell abbaubarer CHO-Quelle eine höhere Glucoseabsorption am Dünndarm, woraus sich einerseits ein geringerer

Bedarf zur Neubildung über die Gluconeogenese ergibt, andererseits auch weniger Propionat als Substrat für die Gluconeogenese zur Verfügung steht. Dementsprechend ist von einer niedrigeren Insulinausschüttung auszugehen, woraus ein geringerer Übergang der Glucose ins Fettgewebe folgen würde.

In den Studien von RICHARDSON ET AL. (2000) und WITT ET AL. (1999A) führte eine synchrone Rationsgestaltung jeweils zu signifikant höheren Nierenfettmengen gegenüber den asynchronen Rationsvarianten. Darüber hinaus bewirkte die Synchronisierung bei RICHARDSON ET AL. (2000) einen signifikanten Anstieg der Gesamtfettkonzentration im Schlachtkörper von Lämmern. Im vorliegenden Versuch war die Synchronisierung mit einer Zunahme des Fettansatzes verbunden, was tendenziell den höchsten Energieansatz zur Folge hatte, während der Proteinansatz nicht anstieg.

Bei der Ration SS ist aufgrund der aus 1,6 % Harnstoff und 3,8 % Lupine bestehenden N-Quelle ein Mangel an Aminosäuren denkbar, welcher sich eventuell begrenzend auf die Proteinsynthese ausgewirkt hat. Bei der Ration LL könnte zunächst wie bei den Rationen LM und LS eine effizientere Nutzung der Dünndarmglucose gegenüber der aus der Gluconeogenese stammenden Glucose vorliegen, da es sich bei der Gluconeogenese um einen energieaufwändigen Prozess handelt (BERGNER UND HOFFMANN, 1996). Unterstützt wird diese These durch die Arbeit von RUST (1983), der an 21 kg schwere Hammellämmer zusätzlich zu einer Basalration 180 g Glucose entweder oral verabreichte oder in den Labmagen infundierte. Die Lämmer aus der letztgenannten Behandlung verwerteten die Energie aus Glucose um 215 % effizienter für den Ansatz als die Lämmer mit der Glucosesupplementierung über das Futter, gleichzeitig fanden sich 87 % der zusätzlich retinierten Energie im Fettansatz wieder. In der Ration LL könnten nun in Verbindung mit den in höherem Maße gegenüber den Rationen LS und LM zur Verfügung stehenden Aminosäuren aus dem Bypassprotein der für den Proteinansatz benötigte AS-Pool besser gefüllt worden sein, wofür auch die tendenziell höchste N-Retention spricht. Letztlich blieb aber durch den Spareffekt der Dünndarmglucose immer noch Energie übrig, die dann in die Körperfettsynthese floss.

Eine Zunahme des Fettansatzes ist bei den synchronen Rationen im vorliegenden Versuch sowie bei RICHARDSON ET AL. (2000) mit einer gesteigerten Verwertung der umsetzbaren Energie verbunden, da die Zusammensetzung des Ansatzes die Effizienz der Verwertung beeinflusst (RATTRAY UND JOYCE, 1976). Nach GARRETT (1980) liegt die Effizienz der ME-Verwertung für den Fettansatz ( $k_f$ ) beim Wiederkäuer zwischen 60 und 80 %, während die des Proteinansatzes ( $k_p$ ) je nach Leistungsniveau lediglich 10- 40 % beträgt. Mit zunehmendem Lebensalter sinkt die Effizienz der Proteinverwertung. Bei früh abgesetzten, ausschließlich mit Kraftfutter gefütterten

fünf Wochen alten Lämmern, ermittelten ØRSKOV UND MCDONALD (1970) ein  $k_p$  von 34 %, welches bei wiederkäuenden halbjährigen Lämmern auf 10-20 % sinkt, während  $k_f$  dagegen nahezu unverändert bei 80 % bzw. 77-89 % bleibt (ØRSKOV UND MCDONALD, 1970; RATTRAY UND JOYCE, 1976). Da in der vorliegenden Arbeit die Energiebilanz mit Hilfe der C-Bilanz über die Respiration bestimmt wurde, ist eine Auftrennung der Verwertung in Energie- und Proteinansatz ohne weitere Untersuchungen nicht möglich. Stattdessen wird die Verwertung für den gesamten Körperansatz angegeben ( $k_{pf}$ ), welche in der vorliegenden Arbeit im Mittel über alle Versuchsrationen bei 66 % lag. Dieser Wert stimmt sehr gut mit der von JENTSCH UND SCHIEMANN (1982) ebenfalls über die Respiration ermittelten Verwertung von 68 % bei Bocklämmern im Lebendmassebereich von 25-30 kg überein. Auch der Anteil der RFE an der retinierten Energie ist mit 74 % bzw. einer Spanne von 71-78 % im vorliegenden Versuch nahezu deckungsgleich. Andere Untersuchungen, die die Methode der vergleichenden Schlachttechnik anwenden, wiesen grundsätzlich eine niedrigere Verwertung  $k_{pf}$  von 39 bzw. 44-53 % bei einem Anteil der RFE an der retinierten Energie von 52-74 bzw. 72-73 % auf (PFEFFER ET AL., 1979; THERIEZ ET AL., 1982). Auch Futterbewertungssysteme verschiedener Länder legen mit 40 bzw. 50 % eine deutlich geringere Verwertung gegenüber den im Versuch erzielten Werten zugrunde (GfE, 1996; NRC 1985B).

Infolge des signifikant höheren Anteils der RFE an der RE verzeichneten die Rationen mit schnell abbaubaren CHO ebenfalls eine signifikant niedrigere Wärmeproduktion, da geringere thermische Verluste beim Energieansatz im Körperfett gegenüber dem Körperprotein auftreten (MENKE/HUSS, 1987).

Alle sechs Versuchsrationen befanden sich auf einem sehr niedrigen Niveau der Methanproduktion mit 11,4-20,3 l/Tier und Tag bzw. 11,9-20,3 l/kg TM. Bezogen auf die aufgenommene Bruttoenergie entfielen 2,53-4,53 % auf die Methanbildung. Dieses niedrige Niveau lässt sich durch verschiedene Faktoren erklären.

1. Konzentratreiche Ration
2. CHO-Quelle (Bypass)
3. Hohes Fütterungsniveau
4. Fettsupplementierung

Das Grundfutter-Kraftfuttermittelverhältnis von 25:75 % führte bei allen Rationen zu einer generell höheren Propionsäurebildung bzw. einem engen Acetat-/Propionatverhältnis. Da Propionsäure

## Kapitel 3

---

keinen Wasserstoff für die Methanogenese bereitstellt, steht dadurch den Methanbildnern weniger Substrat zur Verfügung (RUSSELL UND WALLACE, 1988), woraus ein Rückgang der Methanproduktion resultiert (VAN NEVEL UND DEMEYER, 1995).

Der Einsatz von Bypass-CHO in Form von Körnermais zeigte ein hohes Reduktionspotential der Methanproduktion vom bis zu 1,8 fachen gegenüber den Rationen ohne Bypass-CHO-Quelle. So wiesen die Futterrationen mit hohem CHO-Bypass (LL, LM, LS) absolut, bezogen auf die tägliche Futteraufnahme sowie auf die aufgenommene Brutto- und verdauliche Energie eine signifikant niedrigere Methanproduktion auf als die Rationen mit CHO aus Erbsen, Stärke und Zucker (SL, SM, SS). Da Bypass-CHO wie z.B. die Stärke aus Körnermais nur in geringem Ausmaß im Pansen abgebaut werden (ØRSKOV, 1986), vermindern diese Futtermittel ebenfalls die Substratverfügbarkeit für die Methanbildner im Pansen und reduzieren auf diese Weise die Methanogenese. Dieses Ergebnis bestätigt eine Studie von BEAUCHEMIN UND MCGINN (2005), die mit Körnermais gegenüber Gerste ebenfalls eine Abnahme der Methanproduktion von 4,0 auf 2,8 % der GE erzielten. Jedoch existieren auch Arbeiten, bei denen Bypass-CHO keinen methansenkenden Effekt erzielten (KELLER, 2003). Einerseits wurde mit Maissilage in letztgenannter Studie ein Stärketräger mit geringerer ruminale Stärkebeständigkeit gegenüber Körnermais eingesetzt (SPIEKERS UND POTTHAST, 2004), andererseits führte KELLER (2003) bessere Milieubedingungen für Methanbildner, Cellulolyten und Protozoen im Pansen bei Maissilage gegenüber Grassilage an, die die ruminale Abnahme der H-Verfügbarkeit durch das Bypass-CHO ausglich.

Eine Methanreduktion durch Bypassproteinträger wurde nicht erzielt, der Proteinbypass scheint im Vergleich zum CHO-Bypass hinsichtlich der Reduktionseffizienz nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Diese These unterstreichen auch die Ergebnisse aus Kapitel 2, in dem ein geringerer N-Bedarf der Methanbildner gegenüber den übrigen Pansenmikroorganismen festgestellt wurde. Dadurch müssten, sofern generell die Mikrobe population nicht mit N unterversorgt ist, die methanogenen Archaea von einem Proteinbypass unbeeinflusst bleiben.

Asynchrone Rationen führten numerisch zu geringeren Methanemissionen als synchrone Rationen, vor allem bei den auf CHO mit schneller Abbaurate basierenden Rationen. Ursache könnte eine intensivere ruminale Fermentation gewesen sein, da den Mikroben durch die Angleichung der Abbauraten von CHO- und N-Quelle möglichst zeitgleich Energie und N zur Verfügung gestellt wurde und somit bessere Wachstumsbedingungen für die Mikroben vorherrschen sollten (NOCEK UND RUSSELL, 1988). Jedoch wurde dieses Versorgungsplus weder in eine höhere mikrobielle Proteinsynthese, noch eine gesteigerte Synthese flüchtiger Fettsäuren

## Kapitel 3

---

bei der Ration SS umgesetzt. Dementsprechend profitierte die methanogene Population vom zusätzlichen H für die Methanbildung.

Das Fütterungsniveau im Versuch betrug etwa das Doppelte des energetischen Erhaltungsbedarfes, gleichzeitig befand sich die Verdaulichkeit der OM der Futterrationen mit 78-81 % auf einem hohen Niveau. Wie in Kapitel 3.1.3.1.1 und 3.1.3.1.2 beschrieben, ist mit einer Kombination von hohem Fütterungsniveau und hoher Verdaulichkeit der Ration eine starke Minderung der Methanproduktion möglich, welche auf einer erhöhten Passagerate des Futters beruht (BLAXTER UND CLAPPERTON, 1965; MATHISON ET AL., 1998). Da die Rationen zu 75 % aus Kraftfutter bestanden, und die Lämmer auf eine hohe quasi semi ad libitum Futteraufnahme eingestellt waren, könnte dies die Propionatsynthese zusätzlich gefördert haben (HEGARTY UND GERDES, 1998), wodurch die Möglichkeit zu einer weiteren Reduktion der Methanproduktion gegeben war.

Den Futterrationen wurde 2 % Rapsöl zugesetzt, um das Pelletieren zu erleichtern. In Verbindung mit dem hohen nativen Fettgehalt des Körnermaises ergaben sich XL-Gehalte der Rationen von im Mittel 6,2 % bei den Körnermaiserationen LL, LM und LS, die das Potential der Fettverträglichkeit von Wiederkäuern nahezu ausschöpfen (FLACHOWSKY UND BRADE, 2007). Die bereits angeführte stark methansuppressive Wirkung von Fett könnte auch bei den Rationen LL, LM und LS zum Rückgang der Rohfaserverdaulichkeit beigetragen haben, woraus ein noch engeres Acetat/Propionatverhältnis resultierte, was die H-Versorgung der Methanbildner zusätzlich einschränkte. Außerdem wirken mittel- und langkettige Fettsäuren toxisch auf Protozoen. Da Methanbildner eng mit Protozoen vergesellschaftet sind (NEWBOLD ET AL., 1995) und vom von Ciliaten produzierten H profitieren (ØRSKOV UND RYLE, 1990), ist eine Verminderung der Protozoen in vielen Fällen mit einer Reduktion der Methanproduktion verbunden (FINLAY ET AL., 1994; JOHNSON UND JOHNSON, 1995).

Jedoch konnten MACHMÜLLER ET AL. (2003B) bei Supplementierung von Kokosnussöl trotz einer Reduktion der Ciliaten Protozoen um im Mittel 94 % keine Reduktion der Methanproduktion feststellen, woraus die Autoren keine zwingende Beziehung zwischen einer Defaunierung einer Minderung der Methanproduktion ableiteten.

Das niedrige Niveau der Methanproduktion könnte auch mit einer für Lämmer im Alter von vier Monaten noch nicht vollständig abgeschlossenen Entwicklung des Pansens in Verbindung gebracht werden. Jedoch erreicht nach OH ET AL. (1972) der Verdauungstrakt von Lämmern im Alter von etwa zwei Monaten adulte Ausmaße. Dagegen gehen JENTSCH UND SCHIEMANN (1982) ebenfalls von einer geringen Pansentätigkeit bei 25-30 kg schweren Lämmern aus. Dafür spricht auch ausgehend von einer Methanproduktion von 2,8 % der GE und 3,6 % der DE der nur

geringe Anstieg auf 3,0 bzw. 4,1 % der GE bzw. DE bis zu einer Lebendmasse von 40 kg. Das Niveau der Methanproduktion der Studie von JENTSCH UND SCHIEMANN (1982) ist, wie auch die TM-Aufnahme, gut mit der vorliegenden Arbeit vergleichbar. Dagegen wurde in anderen Literaturquellen bzw. Klimaszenarien eine höhere Methanemission wachsender Lämmer von 5-6 % der GE festgestellt bzw. grundsätzlich veranlagt (KEMPTON UND LENG, 1979; JOHNSON 1974; IPCC, 2000). Hierbei erreichte die Futteraufnahme der Tiere häufig kein praxisübliches Niveau, wodurch sich auch ein verzerrtes Bild der Methanproduktion ergibt. So ist zu bemerken, dass Schafe und Lämmer einen sehr ausgeprägten Herdeninstinkt besitzen und sehr sensibel auf ihre Haltungsbedingungen reagieren. Oftmals begegnen sie der Einzelhaltung mit einer Reduktion der Futteraufnahme (JENTSCH UND SCHIEMANN, 1982).

Eine aktuelle Untersuchung von KNIGHT ET AL. (2008) an Romney-Lämmern zeigte bei einer Lebendmasse von 29 kg im Alter von 13 Wochen eine Methanproduktion von 10,7 g/d, bezogen auf die TM-Aufnahme 20,9 g CH<sub>4</sub>. Im vorliegenden Versuch ergab sich pro kg TM nur eine Methanproduktion von 8,3-9,9 g CH<sub>4</sub> bei den Rationen mit langsam abbaubaren CHO, und 11,5-14,0 g CH<sub>4</sub>/kg TM bei den Rationen mit schnell abbaubarer CHO-Quelle. Hieraus wird eine um fast 50 % niedrigere Methanproduktion pro kg TM zu den vorliegenden Versuchen deutlich. Zum einen begründet sich dieser Sachverhalt wiederum in der halbierten TM-Aufnahme, zum anderen ist aber auch die Zusammensetzung der Futtermischung entscheidend, da sowohl bei KNIGHT ET AL. (2008) als auch bei KEMPTON UND LENG (1979) kein Kraftfuttereinsatz erfolgte. Vorwiegend werden in der Praxis jedoch kraftfutterbetonte Rationstypen eingesetzt, die auch entsprechend wie in der vorliegenden Arbeit ein niedrigeres methanogenes Potential besitzen. Unter diesem Gesichtspunkt wurde ein Vergleich der im Versuch erhaltenen Methanproduktion mit verschiedenen Schätzgleichungen aus der Literatur durchgeführt (siehe Tabelle 36).

Sowohl die Formel von KIRCHGESSNER ET AL. (1995) als auch von JENTSCH ET AL. (2007) auf Basis der Rohnährstoffe bzw. der verdaulichen Rohnährstoffe überschätzten die tatsächliche Produktion um das Drei- bis Fünffache. Auch bei PELCHEN UND PETERS (1998) führte erst eine Gleichung mit den Parametern Aufnahme an verdaulicher Energie und Rohprotein und Trockenmasse sowie insbesondere der ME-Konzentration der Ration zu einer zuverlässigen Schätzung für Rationstypen, wie sie in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden.

## Kapitel 3

Tabelle 36: Methanproduktion unter Anwendung verschiedener Schätzgleichungen

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS
	syn	med	asy	asy	med	syn
g CH <sub>4</sub> /d KIRCHGESSNER ET AL. (1995) (R <sup>2</sup> =69%)	66	66	65	74	74	73
g CH <sub>4</sub> /d PELCHEN U. PETERS (1998) wachs. Schafe (R <sup>2</sup> =76%)	22	22	20	24	22	22
g CH <sub>4</sub> /d PELCHEN U. PETERS (1998) VQ TM >75 %, (R <sup>2</sup> =82%)	20	18	20	21	20	20
g CH <sub>4</sub> /d PELCHEN U. PETERS (1998) XF < 15 %, (R <sup>2</sup> =69%)	17	16	15	20	18	19
g CH <sub>4</sub> /d PELCHEN U. PETERS (1998) ME > 11-12 MJ (R <sup>2</sup> =87%)	11	12	9	13	13	14
Tatsächliche Produktion g CH <sub>4</sub> /d	10	10	8	12	13	14
MJ CH <sub>4</sub> /d JENTSCH ET AL. (2007) (R <sup>2</sup> =90%)	2,25	2,25	2,19	2,40	2,33	2,33
Tatsächliche Produktion MJ CH <sub>4</sub> /d	0,56	0,56	0,45	0,67	0,73	0,81

Die Ausscheidung an Purinmetaboliten betrug im Mittel über die Versuchsrationen hinweg 24,8 mmol/d mit einer Schwankungsbreite von 17-30 mmol/d. Verglichen mit PUCHALA UND KULASEK (1992), die eine Purinexkretion von 4,2-18 mmol/d bei 25 kg schweren Schafen feststellten, fielen die Werte der eigenen Untersuchung sehr hoch aus. Auch CHEN ET AL. (1992) verzeichneten bei zwei wachsenden Hammellämmern im Gewichtsabschnitt von 27 bzw. 30 kg jeweils eine geringere Purinexkretion von 9,56 bzw. 13,47 mmol/d. Nach ROBINSON ET AL. (1985) ist mit zunehmendem Fütterungsniveau ein Anstieg im Ertrag des bakteriellen Proteins verbunden. Die Lämmer im vorliegenden Versuch erreichten eine wesentlich höhere TM-Aufnahme von im Mittel 1,01 kg/d (0,87-1,06) im Vergleich zu CHEN ET AL. (1992) mit 0,72 bzw. 0,78 kg/d. Bei Bezug der Purinexkretion auf die tägliche TM-Aufnahme ergab sich in der vorliegenden Arbeit ein Mittelwert von 24,6 mmol/kg TM, bei CHEN ET AL. (1992) lag die Ausscheidung bei 17,3 bzw. 13,4 mmol. Ausgehend von diesen Zahlen könnte man auf eine hohe mikrobielle Aktivität der Lämmer in den durchgeführten Bilanzversuchen schließen.

Innerhalb der Purinmetaboliten dominierte unabhängig von der Futtermenge das Allantoin, während Xanthin, Hypoxanthin und Harnsäure in ihrer Summe einem Anteil von 11-23 % entsprachen. Grundsätzlich kann nach RAZZAQUE ET AL. (1981) nicht von statischen Anteilen der einzelnen Purinderivate ausgegangen werden, jedoch überwiegt das Allantoin ab dem Zeitpunkt des Absetzens vom Muttertier. Auch nimmt nach CHEN ET AL. (1992) mit steigender Purinausscheidung der Anteil von Allantoin zu, während der der Oxypurine sinkt. Mehrere Studien wie CHEN ET AL. (1990D), (1992) und LINDBERG ET AL. (1989) ermittelten bei wachsenden Lämmern von 27-30 kg bzw. beim Schaf eine Spannweite des Allantoins von 36-89 %.

## Kapitel 3

---

Die im Versuch erhaltenen 77-89 % bewegten sich am oberen Ende dieses Bereichs, wie auch die Oxypurine und demonstrieren damit das hohe Ernährungsniveau (g DOM/kg met. LM).

Aufgrund einer höheren Proteinsynthese bei jungen heranwachsenden Tieren ist ein höherer Nukleinsäureturnover als bei adulten Tieren zu erwarten (MILLWARD ET AL., 1975), was in der Literatur durch eine höhere endogene Purinausscheidung von Lämmern im Vergleich zu Mutterschafen belegt wird (CHEN ET AL., 1990A,C; BALCELLS ET AL., 1991). So besteht zwischen der Purinexkretion in Abhängigkeit vom endogenem Purinmetabolismus beim Schaf eine kurvilineare Beziehung zwischen renaler Purinausscheidung aus endogenen und exogenen Quellen, da die Purinausscheidung aus endogenen Quellen mit zunehmender Purinabsorption abnimmt, während sie sich beispielsweise beim Rind auf konstantem Niveau befindet (SHINGFIELD, 2000). Möglicherweise könnte sich die endogene Exkretion im Versuch auf einem höheren Niveau bewegt haben, als in der Berechnung der mikrobiellen Proteinsynthese berücksichtigt wurde, was eine Überschätzung des mikrobiellen Proteinertes zur Folge hätte.

Eine synchrone Rationsgestaltung führte in den vorliegenden Versuchen weder bei langsamer noch bei schneller Energie- und N-Freisetzung zu signifikanten Verbesserungen der mikrobiellen Proteinsynthese. Zum selben Ergebnis kamen SHABI ET AL. (1998); RICHARDSON ET AL. (2000) und teilweise KASWARI ET AL. (2003). Im Gegensatz dazu verzeichnete KELLER (2003) bei synchronen Rationen eine Steigerung der mikrobiellen Proteinsynthese von im Mittel 25 % pro kg DOM gegenüber den asynchronen Rationsvarianten, unabhängig von der Abbaurate der CHO-Quelle. Auch mehrere Untersuchungen auf Basis des Synchronismusindex wie SINCLAIR ET AL. (1993), (1995) berichteten von einem positiven Effekt auf die mikrobielle Proteinsynthese. Insbesondere bei den im Pansen einer raschen Abbaurate unterliegenden CHO hätte man eine höhere Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese erwartet, da sich in verschiedenen Studien schnell abbaubare CHO wie Stärke und Zucker besonders förderlich auf die mikrobielle Proteinsynthese auswirkten (HOOVER UND STOKES, 1991; MC CARTHY ET AL., 1989; HERRERA-SALDANA ET AL., 1990).

Im vorliegenden Versuch scheinen jedoch keine verbesserten Lebensbedingungen für die Mikroben im Pansen bei synchronen Rationen vorgelegen zu haben:

Als mögliche Ursache sehen MABJEESH ET AL. (1997) einen zu tiefen pH-Wert im Pansen aufgrund der hohen Konzentration und gleichzeitig intensiven Fermentation der schnell abbaubaren CHO. Der pH-Wert wurde im Versuch leider nicht bestimmt, jedoch ist aufgrund des hohen Kraftfutteranteils von einem niedrigeren pH-Niveau im Pansen auszugehen. In einer Studie mit Lämmern im Gewichtsabschnitt von 25-30 kg ermittelten JENTSCH UND SCHIEMANN (1982) bei allerdings noch geringerem Grundfutteranteil einen pH-Wert von 5,55. Grundsätzlich

## Kapitel 3

---

gehen HOOVER UND MILLER (1992) bei einem pH-Abfall unter ein Niveau von 5,5 von einer Beeinträchtigung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese aus. Eventuell könnten so im vorliegenden Versuch mögliche Effekte auf die mikrobielle Proteinsynthese verdeckt geblieben sein.

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Verwendung des Harnstoffs als N-Quelle für die Synchronisation. Im vorliegenden Bilanzversuchen wurde die Synchronisierung *in vitro* über eine ausgeglichene RNB vorgenommen. Für Harnstoff wurde dabei generell eine RNB von 480 g/kg TS sowie ein RDN 24 von 100 % unterstellt. Aufgrund der signifikant höheren Harn-N-Ausscheidung in den Rationen mit schnell abbaubarer N-Quelle (LS und SS), die jeweils 2 % Harnstoff aufwiesen, und der numerisch geringeren mikrobiellen Proteinsynthese in diesen Rationen liegt der Schluss nahe, dass die Mikroben den N, auch bei schnell verfügbarer, synchroner Energiequelle (SS) nicht optimal nutzen konnten, da die Energiequelle in Form von Zucker und Stärke immer noch zu langsam gegenüber dem Harnstoff verfügbar war, und deshalb mehr Ammoniak über die Pansenwand absorbiert und nach Umwandlung in Harnstoff über den Urin ausgeschieden wurde. Die äußerst rasche Abbaurate von Harnstoff wird von ØRSKOV UND MILLER (1988) bestätigt, die einen vollständigen Abbau des Harnstoffs bereits nach 30 Minuten angeben.

Die auf Körnermais basierenden Rationen hoben sich bei Betrachtung der mikrobiellen N-Menge je Liter Methan mit 1,3-1,5 g N im Vergleich zu 1,1-1,2 g N als tendenziell effizienter im Vergleich zu den Rationen mit schneller CHO-Abbaugeschwindigkeit hervor. Zieht man die produzierte Methanmenge als Kriterium für die Fermentationsleistung heran, führten Rationen mit langsam abbaubarer CHO-Quelle einerseits zu einer signifikant niedrigeren Methanproduktion, andererseits bewirkte eine langsame CHO-Abbaurrate keine Verminderung der Purinsynthese. Dabei ist zu bemerken, dass den Mikroben bei Rationen mit Körnermais als CHO-Quelle eine geringere Menge DOM zur Verfügung stand, was in Verbindung mit einer vergleichbaren mikrobiellen Proteinsynthese auf eine höhere Effizienz hinweisen könnte.

Nach DEMEYER UND VAN NEVEL (1986) beträgt die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese beim Schaf 15-51g N/kg im Pansen scheinbar verdauter OM. Faserbetonte Rationstypen verfügen über eine höhere Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese *in vivo* und *in vitro* als konzentratreiche (HARRISON UND MC ALLAN, 1980; DEMEYER UND VAN NEVEL, 1986).

STERN UND HOOVER (1979) legten in einer Auswertung von 46 Studien (65% Schaf und 35 % Rind) eine mittlere Effizienz von 169g XP/kg DOM im Pansen zugrunde, was einem mikrobiellen N von 27 g/kg DOM entspricht. Die Resultate in den vorliegenden Versuchen können aufgrund des Bezuges auf den gesamten Verdauungstrakt nicht mit diesem Mittelwert in

## Kapitel 3

---

Beziehung gesetzt werden. Die Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (2001) gibt, bezogen auf die Gesamtverdaulichkeit, in den Empfehlungen für Milchkühe und Aufzuchtrinder eine etwas geringere mittlere mikrobielle Proteinsynthese von 156 g/kg an. Daraus ergibt sich wiederum ein mikrobieller N von durchschnittlich 25 g/kg DOM, welcher gut mit der im Versuch ermittelten Spanne von 22,8 bis 25,7 g N/kg DOM übereinstimmt.

Bezogen auf die umsetzbare Energie lässt sich die mikrobielle Proteinsynthese ebenfalls vergleichen. Nach GfE (2001) beträgt die mittlere mikrobielle Proteinsynthese 10,1 g MP/MJ ME ( $\pm 1,5$ ). Der Mittelwert über alle Versuchsrationen hinweg lag bei 8,8 g MP/MJ ME, womit sich das Ergebnis noch in der Schwankungsbreite des Mittelwertes befindet. Es ist jedoch eine schlechtere Effizienz gemessen an der ME im Vergleich zur Bezugsbasis DOM zu erkennen, was vermutlich auf ein höheres Verhältnis DOM zu ME bedingt durch geringere Methanverluste bei Schafen gegenüber Kühen zurückzuführen ist.

Betrachtet man die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese in Abhängigkeit von der Abbaurate der CHO, ergaben sich bei den Körnermaisrationen im Mittel 8,3 g MP/MJ ME, bei der schnell abbaubaren CHO-Quelle 9,1 g MP/MJ ME. Tendenziell konnte bei den Rationen mit langsamer CHO-Abbaurate eine Stimulierung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese hin zu N-Quellen mit langsamer Abbaurate beobachtet werden (8,0 g MP/MJ ME versus 8,6 g MP/MJ ME), wobei ein Unterschied im RDP der CHO-Varianten zwischen im Durchschnitt 79,1 beim Körnermais und 84,3 % beim Erbsen-Stärke-Zucker-Gemisch bestand. Auch MABJEESH ET AL. (1997) konnten bei einer Variation des RDP-Anteils von 67 bis 73 % eine höhere Effizienz der mikrobiellen Synthese bei Rationen mit niedrigerem RDP-Anteil feststellen.

Eine andere Erklärungsmöglichkeit liegt in der Höhe der Ammoniakkonzentration im Pansen. Diese wurde zwar in der vorliegenden Arbeit nicht bestimmt, aber bei den N-Quellen mit langsamer Abbaurate dürfte diese aufgrund des geringeren RDP-Anteils niedriger einzuordnen sein. Liegt eine niedrige Ammoniakkonzentration im Pansen vor, erfolgt die Ammoniakfixierung nicht mehr über Glutamatdehydrogenase, sondern über Glutaminsynthetase und Glutaminsynthase, die beide ATP erfordern und dadurch den mikrobiellen Ertrag um bis zu 14 % senken können (LENG UND NOLAN, 1984). MATRAS ET AL. (1991) berichten ebenfalls von einer tendenziellen Reduktion der Allantoinausscheidung bei Lämmern mit abnehmender ruminaler Abbaugeschwindigkeit der im Versuch verwendeten Proteinquellen.

Dagegen finden sich auch verschiedene Studien, bei denen die N-Quelle keine Auswirkungen auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese mit sich brachte. So fütterten WILLMS ET AL. (1991B) an wachsende Lämmer N in Form von Sojaextraktionschrot oder Kombinationen aus

## Kapitel 3

---

Harnstoff, Schlempe und Fischmehl, wobei keine Unterschiede in der Effizienz der bakteriellen Proteinsynthese mit 43 bis 51 g N/kg scheinbar verdauter OM auftraten. Auch bei GRISWOLD ET AL. (1996) blieb in einer Dauerkulturstudie die bakterielle Effizienz unbeeinflusst von der eingesetzten N-Quelle (Proteine, Peptide, AS oder Harnstoff), und die mikrobielle Effizienz bei Mischungen der N-Quellen war nie größer als bei Verwendung einer Einzelquelle.

HARRISON UND MC ALLAN (1980) sehen einen Zusammenhang zwischen dem Bedarf an vorgeformten AS und der Höhe der Turnoverrate. Übersteigt diese 8 %/h, wirkt sich eine N-Quelle in Form von Protein-N positiv aus. Außerdem spielt die Zusammensetzung der Bakterienpopulation eine Rolle. Da die Futtrationen 75 % Kraftfutter beinhalteten, dürften cellulolytische Bakterien auch in Verbindung mit ihrer Sensitivität gegenüber niedrigeren pH-Werten im Pansen nicht im Vordergrund stehen. Dagegen könnten insbesondere bei den stärkebetonten Maisrationen pH-tolerante, amylolytische Bakterien zahlreich vertreten sein. Diese sind nach RUSSELL ET AL. (1992) in stärkerem Maße auf die Versorgung mit vorgeformten Aminosäuren und Peptiden für ihr Wachstum angewiesen, was die tendenzielle Zunahme der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese der Ration LS zur der Ration LL ebenfalls erklären könnte. Bei MAENG UND BALDWIN (1976) ergab sich zudem ein stimulierender Effekt von Aminosäuren auf das mikrobielle Wachstum in Abhängigkeit von der Stärkemenge im Pansen.

In Abhängigkeit von der Futtration könnte aufgrund des Kraftfutteranteils und der Fett-supplementierung eine teilweise Defaunierung stattgefunden haben. Da Protozoen sehr sensitiv auf einen niedrigen pH-Wert reagieren, gehen LENG UND NOLAN (1984) sowie WHITELAW ET AL. (1984) nur von wenigen Protozoen im Pansen bei getreidereicher Fütterung aus. Protozoen könnten zusätzlich bei den Rationen mit Harnstoff als N-Quelle reduziert sein, da diese nicht in der Lage sind, Ammoniak als N-Quelle zu nutzen (ONODERA ET AL., 1977). Durch eine Reduktion der Protozoen wird der Proteinabbau vermindert, dadurch verbesserte sich die Effizienz mikrobieller Proteinsynthese bei DOREAU UND FERLAY (1995). Gleichzeitig wird die Methanbildung herabgesetzt, woraus ein erhöhter mikrobieller Ertrag bei schnell wachsender Bakterienflora resultiert (DEMEYER UND VAN NEVEL., 1986).

Bei den in vitro bestimmten flüchtigen Fettsäuren führte die schnellere Abbaugeschwindigkeit des Erbsen-Stärke-Zuckergemisches zu signifikant höheren Konzentrationen an flüchtigen Fettsäuren als das Bypass-CHO Körnermais. Nach ØRSKOV ET AL. (1979) können Unterschiede in der Effizienz der Energieverwertung jedoch nicht auf eine unterschiedliche Nutzung flüchtiger Fettsäuren zurückgeführt werden.

In Abhängigkeit von der Proteinquelle konnten unabhängig von der CHO-Quelle jeweils signifikant höhere Konzentrationen an Valeriansäure, Isobuttersäure und Isovaleriansäure festgestellt werden. Diese Steigerung ist vermutlich auf einen Futtermitteleffekt zurückzuführen, da das verwendete Molkenprotein mit 10,3 bzw. 6,4 g/100g XP sehr hohe Anteile an Leucin und Isoleucin im Vergleich zu Harnstoff bzw. Lupinen mit 6,96 bzw. 3,8 aufweist (DEGUSSA, 1990). Daneben stellte eine Arbeit von GRISWOLD ET AL. (1996) bei Harnstoff als alleiniger N-Quelle ebenfalls geringere molare Anteile von Isovalerian-, Valerian- und Isobuttersäure gegenüber Peptiden, AS und Protein fest.

### **Schlussfolgerung**

Oftmals wird im Pansen Ammoniak in einer höheren Freisetzungsrate bereitgestellt, als ihn die Mikroben nutzen können, da gleichzeitig verfügbare Energie zur mikrobiellen Proteinsynthese fehlt (MAENG ET AL., 1997). Mit dem Konzept der synchronen Rationsgestaltung sollten diese Imbalancen behoben werden, da zu jederzeit simultan N und Energie für die Mikroben bereitgestellt wird. Jedoch ergaben sich durch eine synchrone Rationsgestaltung keinerlei positive Auswirkungen auf die mikrobielle Proteinsynthese oder die N-Retention. Stattdessen führte die Proteinquelle mit der geringsten ruminalen Abbaugeschwindigkeit unabhängig von der CHO-Quelle jeweils zur signifikant bzw. tendenziell höchsten N-Retention. Daraus kann geschlossen werden, dass sich die Proteinquelle mit der langsamsten N-Abbaurate bei einheitlichem mikrobiellen Proteinertrag durch die postruminale Lieferung von AS positiv auf den N-Ansatz auszuwirken scheint.

In der Energiebilanz führte die Synchronisierung zu einer Verbesserung der Energienutzung in Form einer signifikant höheren Verwertung der ME bei der Ration SS und einer tendenziell höheren Verwertung bei der Ration LL, welche jeweils auf einem höheren Fettansatz beruhte. Bei der Synchronisierung schnell abbaubarer CHO/Proteinquellen wurden signifikant höhere Fettsäurekonzentrationen erzielt, welche günstig für die Fettsynthese genützt werden könnten. Bei der Synchronisierung langsam abbaubarer CHO- und Proteinquellen könnte eine effizientere Nutzung der Dünndarmglucose vorgelegen haben, welche die auf diese Weise gesparte Energie der Bildung von Körperfett zuführte. Dieser Fettansatz könnte sich in Form einer stärkeren Verfettung der Tiere nachteilig auf deren Schlachtkörperqualität auswirken.

Insbesondere durch den Einsatz von Bypass-CHO in Form von Mais bei Mastlämmern konnte die Methanproduktion, die sich beim Lamm ohnehin auf einem niedrigen Niveau bewegt, weiter reduziert werden. Dagegen führte die Verwendung von Proteinquellen mit langsamer Abbaugeschwindigkeit zu keiner Reduktion der Methanbildung. Auch die synchrone

## Kapitel 3

---

Rationsgestaltung, welche sogar numerisch zu einem Anstieg der Methanproduktion führte, ist nicht als adäquate Maßnahme zu erachten. Für eine maximale Senkung der Methanproduktion ist eine Kombination verschiedener Modelle wie z.B. Bypass-CHO und Fettsupplementierung gut geeignet. Um eine stabile Pansenfermentation im Rahmen einer wiederkäuergerechten Rationsgestaltung sicherzustellen, sind jedoch diesen Fütterungsmaßnahmen enge Grenzen gesetzt.

Die erheblichen Unterschiede in der Methanproduktion von Lämmern in Abhängigkeit von der Futterration und Futteraufnahmeniveau sollten in künftigen Klimaszenarien berücksichtigt werden.

### 3.5 Literaturverzeichnis

**AFRC (1992)**

Nutritive requirements of ruminant animals,  
Protein. Nutr. Abs. Rev. Ser. B 62, 787-835

**ALLISON, M.J. (1970)**

Nitrogen metabolism of ruminal microorganisms, in: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant, Hrsg.: A.T. Philipson, Oriel Press Ltd., England

**ARMSTRONG, D.G. (1964)**

Evaluation of artificially dried grass as a source of energy for sheep, II. The energy value of cocksfoot, timothy and two strains of ryegrass at varying stages of maturity, J. Agric. Sci. (Camb.) 62, 399

**ASANUMA, N., M. IWAMOTO UND T. HINO (1999)**

Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro, J. Dairy Sci. 82, 780-782

**BALCELLS, J., J.A. GUADA, C. CASTRILLO UND J. GASA (1991)**

Urinary excretion of allantoin and allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum, J. Agric. Sci. (Camb.) 116, 309-317

**BALCELLS, J., J.A. GUADA, J.M. PEIRÓ UND D.S. PARKER (1992)**

Simultaneous determination of allantoin and oxypurines in biological fluids by high-performance liquid chromatography, J. Chromatography 575, 153-157

**BALCH, C.C. UND R.C. CAMPLING (1965)**

Rate of passage of digesta through the ruminant digestive tract, in: Physiology of digestion in the ruminant, Hrsg.: R.W. Dougherty, Butterworths, Washington DC

**BARTETZKO, B. (1995)**

Auswirkungen steigender Gaben von Fett aus einer Kombination von Sojavollbohnen und Ca-verseiften Fettsäuren auf verdauungsphysiologische Parameter im Pansen und Caecum des Schafes, Dissertation Tierärztliche Hochschule Hannover

**BAYARU, E., S. KANDA, T. KAMADA, H. HABASHI, S. ANDOH, T. NISHIDA, M. ISHIDA, T. ITOH, K. NAGARA UND Y. ISOBE (2001)**

Effect of fumaric acid on methane production, rumen fermentation and digestibility in cattle fed roughage alone, Anim. Sci. J. 72, 139-146

**BEAUCHEMIN, K.A. UND S.M. MCGINN (2005)**

Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets, J. Anim. Sci. 83, 653-661

**BEAUCHEMIN, K.A. UND S.M. MCGINN (2006)**

Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil and canola oil, J. Anim. Sci. 84, 1489-1496

**BEAUCHEMIN, K.A., S.M. MCGINN, T.F. MARTINEZ UND T.A. MCALLISTER (2007)**

Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle, J. Anim. Sci. 85, 1990-1996

**BEAUCHEMIN, K.A., M.KREUZER, F. O'MARA UND T.A. MCALLISTER (2008)**

Nutritional management for enteric methane abatement: A review, Aust. J. Exp. Agric. 48, 21-27

**BEEVER, D.E. (1993)**

Rumen function, in: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, Hrsg.: J. M. Forbes und J.M./J. France, CAB International, Wallingford, 187-218

**BERGNER, H. UND L. HOFFMANN (1996)**

Bioenergetik und Stoffproduktion landwirtschaftlicher Nutztiere, Chur/Harwood

- BLANK, R., K.-H. SÜDEKUM, I. IMMIG UND J. KLEINMANS (1998)**  
Synchroner Abbau von Kohlenhydraten und Rohprotein in den Vormägen – eine neue Variable für die Rationsgestaltung? Übers.Tierernährg 26, 157-188
- BLAXTER, K.L. (1989)**  
Energy metabolism in animals and man, Cambridge University Press, New York
- BLAXTER, K.L. UND J.L. CLAPPERTON (1965)**  
Prediction of the amount of methane produced by ruminants, Br. J. Nutr. 19, 511-522
- BLAXTER, K.L. UND J.W. CZERKAWSKI (1966)**  
Modification of methane production of sheep by supplementation of its diet, J. Sci. Food Agric. 17, 417-420
- BOADI, D., C. BENCHAAR, J. CHIQUETTE UND D. MASSÉ (2004)**  
Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review, Can. J. Anim. Sci. 84, 319-335
- BREVES, G. UND S. LEONHARD-MAREK (2000)**  
Verdauungsvorgänge in den Vormägen, in: Physiologie der Haustiere, Hrsg.: W. v. Engelhardt und G. Breves, Enke im Hippokrates Verlag
- BROUDISCOU, L., C. J. VAN NEVEL UND D.I. DEMEYER (1990)**  
Effect of soya oil hydrolysate on rumen digestion in defaunated and refaunated sheep, Anim. Feed Sci. Technol. 30, 51-67
- CABRITA, A.R.J., R.J. DEWHURST, J.M.F. ABREU UND A.J.M. FONSECA (2006)**  
Evaluation of the effects of synchronising the availability of N and energy on rumen function and production responses of dairy cows – a review, Anim. Res. 55, 1-24
- CARULLA, J.E., M. KREUZER, A. MACHMÜLLER UND H.D. HESS (2005)**  
Supplementation of *Acacia mearnsii* decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep, Austr. J. Agric. Res. 56, 961-970
- CASPER, D.P., D.J. SCHINGOETHE UND W.A. EISENBEISZ (1990)**  
Response of early lactation dairy cows fed diets varying in source of nonstructural carbohydrate and crude protein, J. Dairy Sci. 73, 1039-1050
- CASPER, D.P., H.A. MAIGA, M.J. BROUK UND D.J. SCHINGOETHE (1999)**  
Synchronization of carbohydrate and protein sources on fermentation and passage rates in dairy cows, J. Dairy Sci. 82, 1779-1790
- CASTRO, F.B., P.M. HOTTEN UND E.R. ØRSKOV (1994)**  
Inhibition of rumen microbes by compounds formed in the steam treatment of wheat straw, Bioresource Techn. 50, 25-30
- CHAMBERLAIN, D.G. UND J.-J. CHOUNG (2002)**  
The importance of rate of ruminal fermentation of energy sources in diets for dairy cows, in: Recent Developments in Ruminant Nutrition 4, Hrsg.: J. Wiseman und P.C. Garnsworthy, Nottingham University Press
- CHEN, X.B., E.R. ØRSKOV UND F.D. DEB HOVELL (1990A)**  
Excretion of purine derivatives by ruminants endogenous excretion, differences between cattle and sheep, Br. J. Nutr. 63, 121-129
- CHEN, X.B., F.D. DEB HOVELL, E.R. ØRSKOV UND S. BROWN (1990B)**  
Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivatives excretion in sheep, Br. J. Nutr. 63, 131-142
- CHEN, X.B., F.D. DEB HOVELL UND E.R. ØRSKOV (1990C)**  
Excretion of purine derivatives in ruminants: recycling of allantoin in the rumen via saliva and its fate in the gut, Br. J. Nutr. 63, 197-205
- CHEN, X.B., J. MATHIESON, F.D. DEB HOVELL UND P.J. REEDS (1990D)**  
Measurement of urine derivatives in urine of ruminants using automated methods, J. Sci. Food. Agric. 53, 23-33

- CHEN, X.B., Y.K. CHEN, M.F. FRANKLIN, E.R. ØRSKOV UND W.J. SHAND (1992)**  
The effect of food intake and body weight on purine derivative excretion and microbial protein supply in sheep, *J. Anim. Sci.* 70, 1534-1542
- CHEN, X.B., D.J. KYLE UND E.R. ØRSKOV (1993)**  
Measurement of allantoin in urine and plasma by high-performance liquid chromatography with pre-column derivation, *J. Chromatography* 617, 241-247
- CHURCH, D.C. (1969)**  
Passage of digesta through the gastrointestinal tract, in: *Digestive Physiology and nutrition of ruminants*, Vol. 1, Corvallis: Oregon state university book stores
- CLARK, J.H., T.H. KLUSMEYER UND M.R. CAMERON (1992)**  
Microbial protein synthesis and flows of nitrogenous fractions to the duodenum of dairy cows, *J. Dairy Sci.* 75, 2304-2323
- CLINE, T.R., U.S. GARRIGUS UND E.E. HATFIELD (1966)**  
Addition of branched-, and straight-chain volatile fatty acids to purified lamb diets and effects on utilization of certain dietary components, *J. Anim. Sci.* 25, 734-739
- CONE, J.-W. (1991)**  
Degradation of starch in feed concentrates by enzymes, rumen fluid and rumen enzymes, *J. Sci. Food Agric.* 54, 23-34
- COTTA, M.A. UND J.B. RUSSELL (1982)**  
Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture, *J. Dairy Sci.* 65, 226-234
- CZERKAWSKI, J.W. (1972)**  
Fate of metabolic hydrogen in the rumen, *Proc. Nutr. Soc.* 31, 141
- CZERKAWSKI, J.W. (1986)**  
An introduction to rumen studies, Pergamon Press, Oxford
- CZERKAWSKI, J.W., K.L. BLAXTER UND F.W. WAINMAN (1966)**  
The metabolism of oleic, linoleic and linolenic acids by sheep with reference to their effects on methane production, *Br. J. Nutr.* 20, 349-362
- CZERKAWSKI, J.W. UND G. BRECKENRIDGE (1969)**  
Fermentation of various soluble carbohydrates by rumen micro-organisms with particular reference to methane production, *Br. J. Nutr.* 23, 925-937
- DEGUSSA (1990)**  
Die Aminosäuren-Zusammensetzung von Futtermitteln
- DEMEYER, D.I., H.K. HENDERICKX (1967)**  
The effect of C18 unsaturated fatty acids on methane production in vitro by mixed rumen bacteria, *Biochim. Biophys Acta*, 137, 484-497
- DEMEYER, D.I. UND C. VAN NEVEL (1986)**  
Influence of substrate and microbial interaction on efficiency of rumen microbial growth, *Repr. Nutr. Develop.* 26, 161-179
- DEWHURST, R.L., D.R. DAVIES UND R.J. MERRY (2000)**  
Microbial protein supply from the rumen, *Anim. Feed Sci. Technol.* 85, 1-21
- DLG (1997)**  
Futterwerttabellen für Wiederkäuer, DLG-Verlag Frankfurt am Main
- DLG (1998)**  
Die bedarfsgerechte Proteinversorgung der Milchkuh, nutzbares Rohprotein (nXP) und ruminale Stickstoffbilanz (RNB) in der praktischen Fütterung, DLG Arbeitskreis Futter und Fütterung, DLG Informationen 1/1998
- DOHME, F., A. MACHMÜLLER, A. WASSERFALLEN UND M. KREUZER (2000)**  
Comparative efficiency of various fats rich in medium chain fatty acids to suppress ruminal methanogenesis as measured with RUSITEC, *Can. J. Anim. Sci.* 80, 473-482

**DOHME, F., A. MACHMÜLLER, A. WASSERFALLEN UND M. KREUZER (2001)**

Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets, *Lett. Appl. Microbiol.* 32, 47-51

**DONG, Y., H.D. BAE, T.A. MCALLISTER, G.W. MATHISON UND K.-J. CHENG (1997)**

Lipid-induced depression of methane production and digestibility in the artificial rumen system (RUSITEC), *Can. J. Anim. Sci.* 77, 269-278

**DORÉ, J. UND M.P. BRYANT (1990)**

Metabolism of one-carbon compounds by the ruminal acetogen *Syntrophococcus sucromultans*, *Appl. Environm. Microbiol.* 56, 984-989

**DOREAU, M. UND A. FERLAY (1995)**

Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: A review, *Livestock. Prod. Sci.* 43, 97-110

**EG1831 (2003)**

Verordnung (EG) Nr.1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung. Amtsblatt der Europäischen Union L268/29-43

**FINGER, T. (1999)**

Methanbildung beim Wiederkäuer nach Zulage teilgeschützter Fette in vitro und in vivo, Dissertation Universität Hohenheim

**FINLAY, B.J., G. ESTEBAN, K.J. CLARKE, A.G. WILLIAMS, T.M. EMBLEY UND R.P. HIRT (1994)**

Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens  
*FEMS Microbiol. Lett.* 117, 157-162

**FIRKINS, J.L. (1996)**

Maximizing microbial protein synthesis in the rumen, *J. Nutr.* 126, 1347S-1354S

**FLACHOWSKY, G. UND W. BRADE (2007)**

Potenziale zur Reduzierung der Methan-Emissionen bei Wiederkäuern, *Züchtungskunde* 79, 417-465

**FRENCH, N. UND J.J. KENNELLY (1990)**

Effects of feeding frequency on ruminal parameters, plasma insulin, milk yield and milk composition in Holstein cows, *J. Dairy Sci.* 73, 1857-1863

**GARRETT W.N. (1980)**

Factors influencing energetic efficiency of beef production, *J. Anim.Sci.* 51, 1434-1440

**GfE (1996)**

Energie-Bedarf von Schafen. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 5, 149-152

**GfE (2001)**

Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder, Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, DLG-Verlag Frankfurt am Main

**GENTHNER B.R.S., C.L. DAVIS UND M.P. BRYANT (1981)**

Features of rumen and sewage strains of *Eubacterium limosum*, a methanol- and H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> utilizing species, *Appl. Environm. Microbiol.* 42, 12-19

**GIGER-REVERDIN, S., M. VERMOREL UND D. SAUVANT (1992)**

Facteurs de variation de la production de méthane au cours de la digestion des aliments composés chez les ruminants, *Ann. Zootech* 41, 37-38

**GRAHAM, N.M., F.W. WAINMAN, K.L. BLAXTER UND D.G. ARMSTRONG (1959)**

Environmental temperature, energy metabolism and heat regulation in sheep, 1. Energy metabolism in closely clipped sheep, *J. Agric. Sci. (Camb.)* 52, 13-17

**GREENING, R.C. UND J.A.Z. LEEDLE (1989)**

Enrichment and isolation of *Acetitomaculum ruminis*, gen. nov., sp. nov.: acetogenic bacteria from the bovine rumen, *Arch. Microbiol.* 151,399-406

**GRIFFITH, D.W. UND D.I.H. JONES (1977)**

Cellulase inhibition by tannins in the test of field beans (*Vicia faba*), *J. Sci. Food Agric.* 28, 983-989

**GRISWOLD, K.E., W.H. HOOVER, T.K. MILLER UND W.V. THAYNE (1996)**

Effect of form of nitrogen on growth of ruminal microbes in continuous culture, *J. Anim.Sci.* 74, 483-491

**HAGEMEISTER, H. UND W. KAUFMANN (1974)**

Der Einfluss der Rationsgestaltung auf die Verfügbarkeit von Protein-N bzw. Aminosäure-N im Darm der Milchkuh, *Kieler Milchw. Forsch.*26, 199-220

**HARRISON, D.G. UND A.B. MC ALLAN (1980)**

Factors affecting microbial growth yields in the reticulorumen, in: *Digestive physiology and metabolism in ruminants*, Hrsg.: Y. Ruckebusch und P. Thivend, MTP Press Lancaster

**HARMEYER, J. (1986)**

Energy expenditure of rumen microbes for maintenance, *Arch. Anim. Nutr.* 36, 143-148

**HARSTAD, O.M. UND L. VIKMO (1985)**

Estimation of microbial and undegraded protein in sheep on grass silage based diets, *Acta Agric. Scand. Suppl.* 25, 37-48

**HAYLER, R. (1999)**

Wirkungen tanninhaltiger Futtermittel auf die Methanbildung in vitro und in vivo, Dissertation Universität Hohenheim

**HEGARTY, R.S. (1999A)**

Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa, *Aust. J. Agric. Res.* 50, 1321-1327

**HEGARTY, R.S. (1999B)**

Mechanisms for competitively reducing ruminal methanogenesis, *Aust. J. Agric. Res.* 50, 1299-1305

**HEGARTY, R.S. UND R. GERDES (1998)**

Hydrogen production and transfer in the rumen, *Rec. Adv. Anim. Nutr.* 12, 37-44

**HENDERSON, C. (1973)**

The effects of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria, *J. Agric. Sci. (Camb.)* 81, 107-112

**HENIS, Y., H. TAGARI UND R. VOLCANI (1964)**

Effect of water extracts of carob pods, tannic acid and their derivatives on the morphology and growth of microorganisms, *Appl. Microbiol.* 12, 204-209

**HERRERA-SALDANA, R. UND J.T. HUBER (1989)**

Influence of varying protein and starch degradabilities on performance of lactating cows, *J. Dairy Sci.* 72, 1477-1483

**HERRERA-SALDANA, R., R. GOMEZ-ALACON, M. TORABI UND J.T. HUBER (1990)**

Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis, *J. Dairy Sci.* 73, 142-148

**HINDRICHSEN, I.K., M. KREUZER, A. MACHMÜLLER, K.E. BACH KNUDSEN, J. MADSEN UND H.-R. WETTSTEIN (2003)**

Methane release and energy expenditure of dairy cows fed concentrates characterized by different carbohydrates, in: *Progress in research on energy and protein metabolism*, Hrsg.: W.B. Souffrant, C.C. Metges. EAAP publication No. 109, Wageningen Academic Publishers, 413-416

**HINDRICHSEN, I.K., H.-R. WETTSTEIN, A. MACHMÜLLER, C.R. SOLIVA, K.E. BACH KNUDSEN, J. MADSEN UND M. KREUZER (2004)**

Effects of feed carbohydrates with contrasting properties on rumen fermentation and methane release in vitro, *Can. J. Anim. Sci.* 84, 265-276

**HINO, T. UND J.B. RUSSELL (1985)**

Effect of reducing-equivalent disposal and NADH/NAD on deamination of amino acids by intact rumen microorganisms and their cell extracts, *Appl. Environm. Microbiol.* 50, 1368-1374

**HIRONAKA, R., G.W. MATHISON, B.K. KERRIGAN UND I. VLACH (1996)**

The effect of pelleting of alfalfa hay on methane production and digestibility by steers, *Sci. Total Environm.* 180, 221-227

**HOBSON, P.N. UND R.J. WALLACE (1982)**

Microbial ecology and activities in the rumen: Part II. *Crit. Rev. Microbiol.* 9, 253-320

**HOFFMANN, L., W. JENTSCH, H. WITTENBURG UND R. SCHIEMANN (1972)**

Die Verwertung der Futterenergie für die Milchproduktion, 5. Mitteilung, *Archiv für Tierernährung* 8, 101-122

**HOOVER, W.H. (1986)**

Chemical factors involved in ruminal fiber digestion, *J. Dairy Sci.* 69, 2755-2766

**HOOVER, W.H. UND S.R. STOKES (1991)**

Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield, *J. Dairy Sci.* 74, 3630-3644

**HOOVER, W.H. UND T.K. MILLER (1992)**

Rumen digestive physiology and microbial ecology, Bull 708T, *Agric. Forestry Exp. Sta., West Virginia, University Morgantown*

**HUME, I.D., R.J. MOIR UND M. SOMERS (1970)**

Synthesis of microbial protein in the rumen, I. Influence of the level of nitrogen intake, *Austr. J. Agric. Res.* 21, 283

**HUNGATE, E.R. (1966)**

The rumen and its microbes, Academic Press, New York, London

**HVELPLUND, T. UND J. MADSEN (1985)**

Amino acid passage to the small intestine in dairy cows compares with estimates of microbial protein and undegraded protein from analysis of feed, *Acta Agric. Scand. Suppl.* 25, 21-36

**IMMIG, I. (1996)**

The rumen and hindgut as source of ruminant methanogenesis, *Environm. Monit. Assess.* 42, 57-72

**INRA (2004)**

Tables of composition and nutritional value of feed materials, Wageningen Academic publishers

**IPCC (2000)**

Good Practice Guidance and Uncertainty Management in National Greenhouse Gas Inventories

**ISAACSON, H.R., F.C. HINDS, M.P. BRYANT UND F.N. OWENS (1975)**

Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture, *J. Dairy Sci.* 58, 1645-1659

**JENTSCH, W. UND R. SCHIEMANN (1982)**

Zum Energiebedarf bei der intensiven Lämmermast und der Aufzucht von Jungböcken, *Arch. Tierernährung* 32, 185-198

- JENTSCH, W., M. SCHWEIGEL, F. WEISSBACH, H. SCHOLZE, W. PITRAFT UND M. DERNO (2007)**  
Methane production in cattle calculated by the nutrient composition in the diet, Arch. Anim. Nutr. 61, 10-19
- JEROCH, H., W. DROCHNER UND O. SIMON (2008)**  
Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere, 2. Auflage, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- JOBLIN, K.N., G.P. CAMPBELL, A.J. RICHARDSON UND C.S. STEWART (1989)**  
Fermentation of barley straw by anaerobic rumen bacteria and fungi in axenic culture and co-culture with methanogens, Lett. Appl. Microbiol. 9, 195-197
- JOHNSON, D.E. (1974)**  
Adaptational responses in nitrogen and energy balance of lambs fed a methane inhibitor, J. Anim. Sci. 38, 154-157
- JOHNSON, D.E., T.M. HILL, G.M. WARD, K.A. JOHNSON, M.E. BRANINE, B.R. CARMEAN UND D.W. LODMAN (1993)**  
Principle factors varying methane emissions from ruminants and other animals, in: Atmospheric methane: Sources, sinks and role in global change, Hrsg. M.A.K. Khalil, NATO ADI Series Vol. 113, Springer Verlag Berlin
- JOHNSON, K.A. UND D.E. JOHNSON (1995)**  
Methane emissions from cattle, J. Anim. Sci. 73, 2483-2492
- JOHNSON, D.E., K.A. JOHNSON, G.M. WARD UND M.E. BRANINE (2000)**  
Ruminants and other animals, in: Atmospheric methane, its role in the global environment, Hrsg.: M.A.K. Khalil, Springer Verlag
- JOUANY, J.P. (1994)** Manipulation of microbial activity in the rumen, Arch. Anim. Nutr. 46, 133-153
- JOUANY, J.P. (1996)**  
Effect of rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants, J. Nutr. 126, 1335S-1346S
- KASWARI, T., P. LEBZIEN, U. TER MEULEN UND G. FLACHOWSKY (2003)**  
Effects of synchronisation of protein and energy availability in the rumen in microbial protein synthesis in dairy cows, Proc. Soc. Nutr. Physiolog, 12, 70
- KELLER, S. (2003)**  
Fat supplementation and varying rate and extent of fermentation in rations for dairy cows. Effects on milk production, rumen fermentation and energy partitioning with particular consideration of methane production, Dissertation Universität Hohenheim
- KEMPTON, T.J. UND R.A. LENG (1979)**  
Protein nutrition of growing lambs. 1. Responses in growth and rumen function to supplementation of a low-protein-cellulosic diet with either urea, casein or formaldehyde-treated casein, Br. J. Nutr. 42, 289-302
- KENNEDY, P.M., R.J. CHRISTOPHERSON UND L.P. MILLIGAN (1976)**  
The effect of cold exposure of sheep on digestion, rumen turnover and efficiency of microbial synthesis, Br. J. Nutr. 36, 231-242
- KIRCHGESSNER, M., W. WINDISCH UND H.L. MÜLLER (1994)**  
Methane release from dairy cows and pigs. Energy metabolism in farm animals, EAAP- Publication. 76, 399-402
- KIRCHGESSNER, M., W. WINDISCH UND H.L. MÜLLER (1995)**  
Nutritional factors for the quantification of methane production, in: Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and reproduction: Proceedings of the Eighth International symposium on Ruminant Physiology, Hrsg.: W. von Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves und D. Giesecke, Ferdinand Enke Verlag
- KNIGHT, T.W., G. MOLANO, H. CLARK UND A. CAVANAGH (2008)**  
Methane emissions from weaned lambs measured at 13, 17, 25 and 35 weeks of age compared with mature ewes consuming a fresh forage diet, Austr. J. Exp. Agric. 48, 240-243

- KOLVER, E., L.D. MULLER, G.A. VARGA UND T.J. CASSIDY (1998)**  
Synchronization of ruminal degradation of supplemental carbohydrate with pasture nitrogen in lactating dairy cows, *J. Dairy Sci.* 82, 2017-2028
- KOLVER, E., P.W. ASPIN, G.N. JARVIS, K.M. ELBOROUGH UND J.R. ROCHE (2004)**  
Fumarate reduces methane production from pasture fermented in continuous culture, *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 64, 155-159
- KREUZER, M., H.M. MÜLLER UND M. KIRCHGESSNER (1985)**  
Energiebilanz und Energieverwertung bei Kühen, während und nach überhöhter Proteinzufuhr, 3. Mitteilung, *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde*, 54, 41-54
- KREUZER, M., M. KIRCHGESSNER UND H.M. MÜLLER (1986A)**  
Effect of defaunation on the loss of energy in wethers fed different quantities of cellulose and normal or steamflaked maize starch, *Animal Feed Science Technol.* 16, 233-241
- KREUZER, M., M. KIRCHGESSNER, R.J. KELLNER UND F.X. ROTH (1986B)**  
Nährstoffverdaulichkeit, N-Stoffwechsel und Allantoinausscheidung von Hammeln bei Variation der Protein- und Energiekonzentration, *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 55, 144-159
- KRUMHOLZ, L.R. UND M.P. BRYANT (1985)**  
*Clostridium pfenigii* sp. nov. uses methoxyl groups of monobenzenoids and produces butyrate, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 35, 454-456
- KURIHARA, M., M. SHIBATA, T. NISHIDA, A. PURNOMOADI UND F. TERADA (1997)**  
Methane production and its dietary manipulation in ruminants, in: *Rumen microbes and digestive physiology in ruminants*, Hrsg.: R. Onodera, H. Itabashi, K. Ushida, H. Yano und Y. Sasaki, Japan Sci. Soc. Press Tokyo/S. Karger, Basel
- LE VAN, T.D., J.A. ROBINSON, J. RALPH, R.C. GREENING, W.J. SMOLENSKI, J.A.Z. LEEDLE UND D.M. SCHAEFER (1998)**  
Assessment of reductive acetogenesis with indigenous ruminal bacterium populations and acetitomaculum ruminis, *Appl. Environm. Microbiol.* 64, 3429-3436
- LEBERL, P. (2001)**  
Energie- und Stickstoffumsatz von Milchkühen bei Austausch von Mais- gegen Gras-silage als Grundfutterkomponenten; zugleich ein Beitrag zur Eignung von Kalium als Marker für die Bestimmung der Harnausscheidung, Diplomarbeit, Institut für Tierernährung, Universität Hohenheim
- LEE, E. UND M.Y. CHOI (1992)**  
Effects of daily feeding frequency on the growth of rumen ciliates in the different diet condition, *Korean J. Anim. Sci.* 34, 364-369
- LEEDLE, J.A.Z. UND R.C. GREENING (1988)**  
Postprandial changes after feeding high- or low- forage diets once daily, *Appl. Environm. Microbiol.* 54, 502-506
- LEINMÜLLER, E. (1989)**  
Wirkungen tanninhaltiger Futtermittel auf den Protein- und Kohlenhydratstoffwechsel in Pansensaft in vitro, Dissertation Universität Hohenheim
- LE-LIBOUX, S. UND J.L. PEYRAND (1999)**  
Effect of forage particle size and feeding frequency on fermentation patterns and sites and extent of digestion in dairy cows fed mixed diets, *Anim. Feed Sci. Technol.* 76, 297-319
- LENG, R.A. UND J.V. NOLAN (1984)**  
Nitrogen metabolism in the rumen, *J. Dairy Sci.* 67, 1072-1089
- LINDBERG; J.E., A. BRISTOV UND A.R. MANYENGA (1989)**  
Excretion of purines in the urine of sheep in relation to duodenal flow of microbial protein, *Swed. J- Agric. Res.* 19, 45-52

**LOEFFLER, G. UND P.E. PETRIDES (1997)**

Biochemie und Pathobiochemie, 5. Auflage, Springer Verlag

**LOEFFLER, K. UND G. GÄBEL (2008)**

Anatomie und Physiologie der Haustiere, 11. Auflage, Eugen Ulmer Verlag

**LOOSE, K. (2000)**

Ruminaler Abbau verschiedener Stärkequellen und duodenale Stärkeanflutung, Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft 217, 33-45

**MABJEESH, S.J., A. ARIELI, I. BRUCKENTAL, S. ZAMWELL UND H. TAGARI (1997)**

Effect of ruminal degradability of crude protein and non-structural carbohydrates on the efficiency of bacterial crude protein synthesis and amino acid flow to the abomasum of dairy cow, J. Dairy Sci. 80, 2939–2949

**MACKIE, R.I. UND M.P. BRYANT (1994)**

Acetogenesis and the rumen: syntrophic relationships, in: Acetogenesis, Hrsg.: H. L. Drake, Chapman und Hall, New York

**MACHMÜLLER, A. UND M. KREUZER (1999)**

Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep, Can. J. Anim. Sci. 79, 65-72

**MACHMÜLLER, A., D.A. OSSOWSKI UND M. KREUZER (2000)**

Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs, Anim. Feed Sci. Technol. 85, 41-60

**MACHMÜLLER, A., C.R. SOLIVA UND M. KREUZER (2003)**

Effect of coconut oil and defaunation treatment on methanogenesis in sheep, Reprod. Nutr. Dev. 43, 41-55

**MACHMÜLLER, A., D.A. OSSOWSKI UND M. KREUZER (2006)**

Effect of fat supplementation on nitrogen utilisation of lambs and nitrogen emission from their manure, Livestock Sci. 101, 159-168

**MACZULAK, A. E., B.A. DEHORITY UND D.L. PALMQUIST (1981)**

Effects of long chain fatty acids on growth of rumen bacteria, Appl. Environm. Microbiol. 42, 856-862

**MAENG, W.J., H.PARK UND H.J. KIM (1997)**

The role of carbohydrate supplementation in microbial protein synthesis in the rumen, in: Rumen microbes and digestive physiology in ruminants, Hrsg.: R. Onodera et al., Japan Scientific Press, Tokyo/S. Karger, Basel

**MAENG, W.J. UND R.L. BALDWIN (1976)**

Factors influencing rumen microbial growth rates and yields: effect of amino acids and protein, J. Dairy Sci. 59, 648-655

**MAHADEVAN, S., J.D. ERFLE UND F.D. SAUER (1980)**

Degradation of soluble and insoluble proteins by *Bacteroides amylophilus* protease and by rumen microorganisms, J. Anim. Sci. 50, 723-728

**MARTIN, S.A. (1988)**

Effects of p-coumaric acid and ferulic acid on methane production and fibre digestion by mixed rumen microorganisms in vitro, Lett. Appl. Microbiol. 7, 113-114

**MATHISON, G.W., E.K. OKINE, T.A. MC ALLISTER, Y. DONG, J. GALBRAITH UND O.I.M. DMYTRUK (1998)**

Reducing methane emissions from ruminant animals, J. Appl. Anim. Res. 14, 1-28

**MATRAS, J., S.J. BARTLE UND R.L. PRESTON (1991)**

Nitrogen utilization in growing lambs: Effects of grain (starch) and protein sources with various rates of ruminal degradation, J. Anim. Sci. 69, 339-347

- MATSUMOTO, M., T. KOBAYASHI, A. TAKENAKA UND H. ITABASHI (1991)**  
Defaunation effects of medium-chain fatty acids and their derivatives on goat rumen protozoa, *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37, 439-445
- MC ALLISTER, T.A., L.M. RODE, D.J. MAJOR, K.-J. CHENG UND J.G. BUCHANAN-SMITH (1990)**  
Effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion, *Can. J. Anim. Sci.* 70, 571-579
- MC ALLISTER, T.A., R.C. PHILLIPPE, L.M. RODE UND K.-J. CHENG (1993)**  
Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms, *J. Anim. Sci.* 71, 205-212
- MC ALLISTER, T.A., E.K. OKINE, G.W. MATHISON UND K.-J. CHENG (1996)**  
Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants, *Can. J. Anim. Sci.* 76, 231-243
- MC ALLISTER, T.A. UND C.J. NEWBOLD (2008)**  
Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis, *Austr. J. Exp. Agric.* 48, 7-13
- MC CARTHY, R.D., T.H. KLUSMEYER, J.L. VICINI, J.H. CLARK UND D.R. NELSON (1989)**  
Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows, *J. Dairy Sci.* 72, 2002-2016
- MC DONALD, I. (1981)**  
A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen, *J. Agric. Sci. (Camb.)* 96, 251-252
- MC DONALD, P., R.A. EDWARDS, J.F.D. GREENHALGH UND C.A. MORGAN (1996)**  
*Animal Nutrition*, Fifth edition, Longman Singapore Publishers
- MCGINN, S.M., K.A. BEAUCHEMIN, T. COATES UND D. COLOMBATTO (2004)**  
Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast and fumaric acid, *J. Anim. Sci.* 82, 3346-3356
- MC LEAN, J.A. UND G. TOBIN (1987)**  
*Animal and human calorimetry*, Cambridge University Press New York
- MC LEOD, M.N. (1974)**  
Plant tannins - their role in forage quality, *Nutr. Abstr. Rev.* 44, 803-815
- MENKE, K.-H. UND W. HUSS (1987)**  
*Tierernährung und Futtermittelkunde*, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart
- MEHREZ, A.Z., E.R. ØRSKOV UND I. MC DONALD (1977)**  
Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration, *Br. J. Nutr.* 38, 447
- MILLER, E.L. (1973)**  
Evaluation of foods as sources of nitrogen and amino acids, *Proc. Nutr. Soc.* 32, 79
- MILLWARD, D.J., P.J. GARLICK UND R.J.C. STEWART (1975)**  
Skeletal muscle growth and protein turnover, *Biochem. J.* 150, 235-243
- MOE, P.W. UND H.F. TYRELL (1980)**  
Methane production in dairy cows, in: *Proc. VIII. Symp. Energy Metabolism*, Hrsg.: L.E. Mount, EAAP Publ. 26, Butterworth, London
- MOORE, L.A. (1964)**  
Symposium on forage utilization: Nutritive value of forage as affected by physical form, Part I. General principles involved with ruminants and effect of feeding pelleted or wafered forage to dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 23, 230-238
- MOSS, A.R., J.-P. JOUANY UND C.J. NEWBOLD (2000)**  
Methane production by ruminants: its contribution to global warming, *Ann. Zootech.* 49, 231-253
- MOSS, A.R., D.I. GIVENS UND P. MURRAY (2001)**  
Effect of environmental conditions on methane production by ruminants, in: *Energy metabolism in animals*, Proceedings of the 15<sup>th</sup> symposium on energy metabolism in animals, EAAP Publication 103, Hrsg.: A. Chwaliborg und K. Jacobsen, Wageningen

**MÜLLER, H.L., J. VON SAX UND M. KIRCHGESSNER (1980)**

Energieverluste über Kot, Harn und Methan durch unterschiedliche Häufigkeit der Fütterung bei nichtlaktierenden und laktierenden Kühen,  
J. Anim. Physiol. Nutr. 44, 181-189

**MÜLLER, H.L., F. BIRKENMAIER, F.J. SCHWARZ UND M. KIRCHGESSNER (1994)**

Energetische Verwertung von Futterrüben durch Milchkühe,  
J. Anim. Physiol. Nutr. 71, 234-238

**MURRAY, R., A.M. BRYANT UND R.A. LENG (1978)**

Methane production in the rumen and lower gut of sheep given Lucerne chaff: effect of level of intake, Br. J. Nutr. 39, 337-345

**NEGI, S.S. (1982)**

Tannins in sal seed (*shorea robusta*) and sal seed meal limit their utilization as livestock feeds, Anim. Feed Sci. Technol. 7, 161-183

**NEWBOLD, C.J., B. LASSALAS UND J.P. JOUANY (1995)**

The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production in vitro, Lett. Appl. Microbiol. 21, 230-234

**NEWBOLD, C.J., S. LÓPEZ, N. NELSON, J.O. OUDA, R.J. WALLACE UND A.R. MOSS (2005)**

Propionate precursors and other metabolic intermediates as possible alternative electron acceptors to methanogenesis in ruminal fermentation in vitro, Br. J. Nutr. 94, 27-35

**NIKOLIC, J.A., M. JOVANOVIC UND R. FILIPOVIC (1975)**

Microbial protein synthesis by bovine rumen content in relation to ammonia concentration, Studies on nonprotein nitrogen for ruminants II. FAO/IAEA

**NOCEK, J.E. UND J.B. RUSSELL (1988)**

Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial protein synthesis and milk production,  
J. Dairy Sci. 71, 2070-2107

**NOLAN, J.V. UND R.C. DOBOS (2005)**

Nitrogen transactions in ruminants, in: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, 2<sup>nd</sup> edition, Hrsg.: J. Dijkstra, J.M. Forbes und J. France, CAB International

**NOLLET, L., D. DEMEYER UND W. VERSTRATE (1997)**

Effect of 2-Bromoethanesulfonic acid and *Peptostreptococcus productus* ATCC 35244 addition on stimulation of reductive acetogenesis in the ruminal ecosystem by selective inhibition of methanogenesis, Appl. Environm. Microbiol. 63, 194-200

**NRC (1985A)**

Ruminant nitrogen usage, Hrsg.: Subcommittee on nitrogen usage in ruminants, National Academy Press, Washington D.C.

**NRC (1985B)**

Nutrient requirements of sheep, National research Council, National Academy Press, Washington D.C., 6. Auflage

**NUGENT, J.H.A. UND J.L. MANGAN (1978)**

Rumen proteolysis of fraction I leaf protein, casein and bovine serum albumin, Proc. Nutr.Soc. 37, 48A

**NUGENT, J.H.A., W.T. JONES, D.J. JORDAN UND J.L. MANGAN (1983)**

Rates of proteolysis in the rumen of the soluble proteins casein, Fraction I (18s) leaf protein, bovine serum albumin and bovine submaxillary mucoprotein, Br. J Nutr. 50, 357-368

**O'MARA, F. (2004)**

Greenhouse gas production from dairying: Reducing methane production, Adv. Dairy Techn. 16, 295-309

- OH, J.H., I.D. HUME UND D.T. TORELL (1972)**  
Development of microbial activity in the alimentary tract of lambs,  
J. Anim. Sci. 35, 450-459
- OKINE, E.K., G.W. MATHISON UND R.T. HARDIN (1989)**  
Effects of changes in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle, J. Anim. Sci. 67, 3388-3396
- OKORIE, A.U., P.J. BUTTERY UND D. LEWIS (1977)**  
Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen, Proc. Nutr. Soc. 36, 38 A
- ONODERA, R., T. NAKAGAWA UND M. KANDATSU (1977)**  
Ureolytic activity of the washed cell suspension of rumen ciliate protozoa,  
Agric. Biol. Chem. 41, 2177-2182
- ØRSKOV, E.R. (1986)**  
Starch digestion and utilization in ruminants, J. Anim. Sci. 63, 1624-1633
- ØRSKOV, E.R. (1992)**  
Protein nutrition in ruminants, 2. Auflage, Academic Press, London
- ØRSKOV, E.R. UND I. McDONALD (1970)**  
The utilization and dietary energy for maintenance and for fat and protein deposition in young growing sheep, Proceedings of the 5th Symposium on energy metabolism, Vitznau
- ØRSKOV, E.R. UND I. McDONALD (1979)**  
The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage, J. Agric. Sci. Camb. 92, 499-503
- ØRSKOV, E.R. UND E.L. MILLER (1988)**  
Protein evaluation in ruminants, in: Feed Science, Hrsg: E.R. Ørskov,  
Elsevier Science Publishers LTD
- ØRSKOV, E.R. UND M. RYLE (1990)** Energy nutrition in ruminants,  
Elsevier Science Publishers LTD
- ØRSKOV, E.R., W.P. FLATT UND P.W. MOE (1968)**  
Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid fermentation in ruminants, J. Dairy Sci. 51, 9, 1429-1435
- ØRSKOV, E.R., C. FRASER UND I. Mc.DONALD (1972)**  
Digestion of concentrates in sheep, 4. The effects of urea on digestion, nitrogen retention and growth in young lambs, Br. J. Nutr. 27, 491-501
- ØRSKOV, E.R., D.A.GRUBB, A.J.F. WEBSTER UND W. CORRIGALL (1979)**  
The sustenance of growing and fattening ruminants by intragastric infusion of volatile fatty acids and protein, Br. J. Nutr. 41, 553
- OSAKWE, I. (1999)**  
The effects of selected tannin containing browse plants on energy metabolism and digestion parameters of West African Dwarf Sheep, Dissertation, Universität Hohenheim
- OWENS, F.N. UND A.L. GOETSCH (1988)**  
Ruminal fermentation, in: The ruminant animal, Hrsg.: D.C. Church, 145-177
- OWENS, F.N. UND R. ZINN (1988)**  
Protein metabolism in ruminant animals, in: The ruminant animal,  
Hrsg.: D.C. Church, 227-249
- PELCHEN, A. UND K.J. PETERS (1998)**  
Methane emissions from sheep, Small Rum. Res. 27, 13 7-150
- PINARES-PATIÑO C., M.J. ULYATT, C.W. HOLMES, T.N. BARRY UND K.R. LASSEY (2001)**  
Some rumen digestion characteristics and methane emission in sheep, in: Energy metabolism in animals Proceedings of the 15<sup>th</sup> symposium on energy metabolism in animals, EAAP Publication 103, Hrsg.: A. Chwaliborg und K. Jacobsen, Wageningen

**PFEFFER, E., K.BECKER, H.PRIGGE UND H.SOLLER (1979)**

Untersuchungen an wachsenden Lämmern über den Energieansatz bei Fütterung von Mischfutter mit unterschiedlichen Anteilen von NaOH-behandeltem Stroh, Z. Tierphysiol., Tierernähr. Futtermittelkde. 42, 206-215

**PUCHALA, R. UND G.W. KULASEK (1992)**

Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and urinary excretion of purine derivative, Can. J. Anim. Sci. 72, 821-830

**RATTRAY, P.V. UND J.P. JOYCE (1976)**

Utilisation of metabolisable energy for fat and protein deposition in sheep, New Zealand J. Agric. Res. 19, 299-305

**RAZZAQUE, N.A., J.H. TOPPS, R.N.B. KAY UND J.M. BRACKWAY (1981)**

Metabolism of the nucleic acids of rumen bacteria by preruminant and ruminant lambs, Br. J. Nutr. 45, 517-527

**RICHARDSON, J.M., R.G. WILKINSON UND L.A. SINCLAIR (2000)**

Synchrony of nutrient supply to the rumen and dietary energy source and their effects on the growth and metabolism of lambs, J. Anim. Sci. 2003, 1332-1347

**ROBINSON, P.H. UND S. TAMMINGA (1984)**

Gegenwärtiger Kenntnisstand über die Proteinverdauung und- absorption bei Wiederkäuern, Übers. Tierernährg 12, 119-164

**ROBINSON, P.H., C.J. SNIFFEN UND P.J. VAN SOEST (1985)**

Influence of level of feed on digestion and bacterial yield in the forestomachs of dairy cattle, Can. J. Anim. Sci. 65, 437-444

**RODE, L., D.C. WEAKELY UND L.D. SATTER (1985)**

Effect of forage amount and particle size in diets of lactating dairy cows on site of digestion and microbial protein synthesis, Can. J. Anim. Sci. 65, 101-112

**ROGERSON, A. (1960)**

The effect of environmental temperature on the energy metabolism of cattle, J. Agric. Sci. (Camb.) 55, 359-366

**ROTH, S. (2003)**

Reducing methane emission and optimising N-supply in ruminants by treating feeds with tannins, Dissertation, Universität Hohenheim

**RUSSELL, J.B. (1998)**

The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production in vitro, J. Dairy Sci. 81, 3222-3330

**RUSSELL, J.B. UND D.B. DOMBROWSKI (1980)**

Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture, Appl. Environm. Microbiol. 39, 604-610

**RUSSELL, J.B. UND R.B. HESPELL (1981)**

Microbial rumen fermentation, J. Dairy Sci. 64, 1153-1169

**RUSSELL, J.B. UND S.A. MARTIN (1984)**

Effects of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed rumen microorganisms in vitro, Anim. Sci., 59, 1329-1337

**RUSSELL, J.B. UND D.B. WILSON (1996)**

Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? J. Dairy Sci. 79, 1503-1509

**RUSSELL, J.B. UND R.J. WALLACE (1988)**

Energy yielding and consuming reactions, in: The rumen microbial ecosystem, Hrsg.: P.N. Hobson, Elsevier Science Publishers, New York

**RUSSELL, J.B. UND H.J. STROBEL (2005)**

Microbial energetic, in: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism, Hrsg.: J. Dijkstra, J.M. Forbes und J. France, 2nd edition, CAB international

**RUSSELL, J.B., J.D. O'CONNOR, D.G. FOX, P.J. VAN SOEST UND C.J. SNIFFEN (1992)**

A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets, I. Ruminant fermentation, J. Anim. Sci. 70, 3551-3561

**RUST, S.R. (1983)**

Associative effects in the ruminant animal, Dissertation Oklahoma State University Stillwater

**SALLMANN, H.P. UND H. FUHRMANN (2000)**

Physiologische Aspekte der Leberfunktion, in: Physiologie der Haustiere, Hrsg.: W. v. Engelhardt und G. Breves, Enke im Hippokrates Verlag

**SATTER, L.D. UND L.L. SLYTER (1974)**

Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro, Br. J. Nutr. 41, 197

**SATTER, L.D. UND R.E. ROFFLER (1975)**

Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle, J. Dairy Sci. 58, 1219

**SAUVANT, D. UND J. VAN MILGEN (1995)**

Dynamic aspects of carbohydrate and protein breakdown and the associated microbial matter synthesis, in: Ruminant physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction: Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant physiology, Ferdinand Enke Verlag

**SCHIEMANN, R., W. JENTSCH UND H. WITTENBURG (1971A)**

Zur Abhängigkeit der Verdaulichkeit der Energie und der Nährstoffe von der Höhe der Futteraufnahme und der Rationszusammensetzung, Archiv für Tierern. 21, 223-240

**SCHIEMANN, R., K. NEHRING, L. HOFFMANN, W. JENTSCH UND A. CHUDY (1971B)**

Energetische Futterbewertung und Energienormen, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin

**SCHWAB, C.G., P. HUHTANEN, C.W. HUNT UND T. HVELPLUND (2005)**

Nitrogen requirements of cattle, in: Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle, Hrsg.: E. Pfeffer und A.N. Hristov, CAB International

**SEELEY, R.C., D.G. ARMSTRONG UND J.C. MACRAE (1969)**

Feed carbohydrates - the contribution of the end-products of their digestion to energy supply in the ruminants, in: Energy metabolism of farm animals. Proc. 4<sup>th</sup> Symp. Warsaw, Poland 1967, Hrsg.: K.L. Blaxter, J. Kielanowski, G. Thorbek, Oriel Press Newcastle upon Tyne

**SHABI, Z., A. ARIELI, I. BRUCKENTAL, Y. AHARONI, S. ZAMWEL, A. BOR UND H. TAGARI (1998)**

Effect of the synchronization of the degradation of dietary crude protein and organic matter and feeding frequency on ruminal fermentation and flow of digesta in the abomasum of dairy cows, J. Dairy Sci. 81, 1991-2000

**SHABI, Z., I. BRUCKENTAL, S. ZAMWEL, H. TAGARI UND A. ARIELI (1999)**

Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows, J. Dairy Sci. 82, 1252-1260

**SHIBATA, M., F. TERADA, M. KURIHARA, T. NISHIDA UND K. IWASAKI (1993)**

Estimation of methane production in ruminants, Anim. Sci. Technol. (Jpn.), 64, 790-796

**SHINGFIELD, K. (2000)**

Estimation of microbial protein supply in ruminant animals based on renal and mammary purine metabolite excretion. A review, J. Anim. Feed Sci. 9, 169-212

- SINCLAIR, L.A., P.C. GARNSWORTHY, P. BEADSWORTH, P. FREEMAN UND P.J. BUTTERY (1991)**  
The use of cytosine as a marker to estimate microbial protein synthesis in the rumen, *Animal production* 52, 592 (Abstr.)
- SINCLAIR, L.A., P.C. GARNSWORTHY, J.R. NEWBOLD UND P.J. BUTTERY (1993)**  
Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep, *J. Agric. Sci. (Camb)*, 120, 251-263
- SINCLAIR, L.A., P.C. GARNSWORTHY, J.R. NEWBOLD UND P.J. BUTTERY (1995)**  
Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release in diets with a similar carbohydrate composition on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep, *J. Agric. Sci. Camb.* 124, 463-473
- SOLIVA, C.R., L. MEILE, A. CIESLAK, M. KREUZER UND A. MACHMÜLLER (2004)**  
Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis, *Br. J. Nutr.* 92, 689-700
- SOWERS, K.R. (2000)**  
Methanogenesis, in: *Encyclopedia of Microbiology*, Volume 3, Hrsg.: J. Lederberg, Academic Press
- SPIEKERS, H. UND V. POTTHAST (2004)**  
Erfolgreiche Milchviehfütterung, 4. Auflage, DLG-Verlag Frankfurt am Main
- STERN, M.D., A. BACH UND S. CALSAMIGLIA (2006)**  
New Concepts in Protein nutrition of ruminants, 21<sup>st</sup> annual Southwest Nutrition & Management Conference 2006, Tempe, Arizona, USA,  
[ag.arizona.edu/ans/swnmc/2006/talks/Stern\\_SWNMC2006.pdf](http://ag.arizona.edu/ans/swnmc/2006/talks/Stern_SWNMC2006.pdf)
- STEINGAB, H. UND K.-H. MENKE (1986)**  
Schätzung des energetischen Futterwerts aus der in vitro mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse, I. Untersuchungen zur Methode. *Übers. Tierernährg.* 14, 251-270
- STEINGAB, H., D. NIBBE, K.-H. SÜDEKUM, P. LEBZIEN UND H. SPIEKERS (2001)**  
Schätzung des nXP-Gehaltes mit Hilfe des modifizierten Hohenheimer Futterwerttests und dessen Anwendung zur Bewertung von Raps- und Sojaextraktionsschroten, 113. VDLUFA-Kongress Berlin, Kurzfassungen der Vorträge, 114
- STEINGAB, H., S. KELLER UND W. DROCHNER (2003)**  
Das Konzept synchroner Rationsgestaltung für Milchkühe, Umsetzungsmöglichkeiten in Beratung und Praxis, 30. Viehwirtschaftliche Fachtagung 24.-25. April 2003, BAL Gumpenstein, Irnding
- STEINGAB, H., C. ZIEBART UND W. DROCHNER (2003B)**  
Einfluss der Proteinversorgung auf Wachstum und N-Umsatz bei Mastlämmern, 115. VDLUFA Kongress Saarbrücken, Kurzfassungen der Referate, 112-113
- STERN, M.D. UND W.H. HOOVER (1979)**  
Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: A review, *J. Anim. Sci.* 49, 1590-1603
- STERN, M.D., A. BACH UND S. CALSAMIGLIA (1997)**  
Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants, *J. Anim. Sci.* 75, 2256
- SUTTON, J.D., R. KNIGHT, A.B. MCALLAN UND R. H. SMITH (1983)**  
Digestion and synthesis in the rumen of sheep given diets supplemented with free and protected oils, *Br. J. Nutr.* 49, 419

- SUTTON, J.D., I.C. HART, W.H. BROSTER, R.J. ELLIOTT UND E. SCHULLER (1986)**  
Feeding frequency for lactating dairy cows: Effects of rumen fermentation and blood metabolites and hormones, *Br. J. Nutr.* 56, 181-192
- SWANSON, K.C., H.C. FREELY UND C.L. FERRELL (2004A)**  
Nitrogen balance in lambs fed low-quality brome hay and infused with differing proportions of casein in the rumen and abomasum, *J. Anim. Sci.* 82, 502-507
- SWANSON, K.C., H.C. FREELY UND C.L. FERRELL (2004B)**  
Nitrogen balance in lambs fed a high-concentrate diet and infused with differing proportions of casein in the rumen and abomasums, *J. Anim. Sci.* 82, 495-501
- TAMMINGA, S. (1982)**  
Energy-protein relationships in ruminant feeding: Similarities and differences between rumen fermentation and postruminal utilization, in: *Protein contribution of feedstuffs for ruminants: application to feed formulation*, Hrsg.: E.L. Miller Butterworth, London
- TAMMINGA, S. (1992)**  
Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control, *J. Dairy Sci.* 75, 345-357
- TANNER, G.J., A. MOORE, P. LARKIN (1993)**  
Proanthocyanidins inhibit hydrolysis of leaf protein by rumen microflora in vitro, *Br. J. Nutr.*, 71, 947-958
- THERIEZ, M., C. CASTRILLO UND Y. VILLETTE (1982)**  
Influence of metabolizable energy content of the diet and of feeding level on lamb performances, II. Utilization of metabolizable energy for growth and fattening, *Livestock Prod. Sci.* 9, 487-500
- THOMSON, D.J. UND S.B. CAMMELL (1979)**  
The utilization of chopped and pelleted lucerne (*Medicago sativa*) by growing lambs, *Br. J. Nutr.* 41, 297-310
- ULYATT, M.J., S.K. BAKER, G.J. MCCRABB UND K.R. LASSEY (1999)**  
Accuracy of SF<sub>6</sub> tracer technology and alternatives for field measurements, *Austr. J. Agric. Res.* 50, 1329-1334
- VAN NEVEL, C.J., R.A. PRINS UND D.I. DEMEYER (1974)**  
On the inverse relationship between methane and propionate in the rumen, *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk.* 33, 121-125
- VAN NEVEL, C.J. UND D.I. DEMEYER (1995)**  
Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions, in: *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*, Hrsg.: R.J. Wallace und A. Chesson, VCH Publishers Inc., NEW York USA, 329-349
- VAN SOEST, P. J. (1983)**  
*Nutritional ecology of the ruminant*, O & B Books Corvallis, Oregon
- VARGA, G.A., H.F. TYRELL, D.R. WALDO, G.B. HUNTINGTON UND B.P. GLENN (1985)**  
Effect of alfalfa or orchard grass silages on energy and nitrogen utilization for growth of holstein steers, in: *Energy metabolism of farm animals*, Hrsg.: P.W. Moe, H.F. Tyrell und P. J. Reynolds, Ronman and Littlefield, Totawa
- VDLUFA (1976) INKLUSIVE ERGÄNZUNGLIEFERUNGEN 1983, 1988, 1993, 1997**  
*Methodenbuch Band III – Die chemische Untersuchung von Futtermitteln.*  
VDLUFA Verlag Darmstadt
- VOLDEN, H. (1999)**  
Effects of level of feeding and ruminally undegraded protein on ruminal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestinal amino acid profile and performance of dairy cows, *J. Anim. Sci.* 77, 1905-1918

- VON KEYSERLINGK, G.E.M. UND G.W. MATHISON (1993)**  
The effect of ruminal escape protein and ambient temperature on the efficiency of utilization of metabolizable energy by lambs, *J. Anim. Sci.* 71, 2206-2217
- WALLACE, R.J., T.A. WOOD, A. ROWE, J. PRICE, D.R. YANEZ, S.P. WILLIAMS UND C.J. NEWBOLD (2006)**  
Encapsulated fumaric acid as a means of decreasing ruminal methane emissions, *International Congress Series* 1293, 148-151
- WEDEGAERTNER, T.C. UND D.E. JOHNSON (1983)**  
Monensin effects on digestibility, methanogenesis and heat increment of a cracked-corn-silage diet fed to steers, *J. Anim. Sci.* 57, 168-177
- WHITELAW, F.G., J.M. EADIE, L.A. BRUCE UND W.J. SHAND (1984)**  
Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acids, *Br. J. Nutr.* 52, 261-275
- WILLIAMS, A.G., S.E. WITHERS UND K.N. JOBLIN (1994)**  
The effect of cultivation with hydrogen-consuming bacteria on xylanolysis by *Ruminococcus flavefaciens*, *Curr. Microbiol.* 29, 133-138
- WILLMS, C.L., L. BERGER, N.R. MERCHEN, G.C. FAHEY JR. UND R.L. FERNANDO (1991A)**  
Effects of increasing crude protein level on nitrogen retention and intestinal supply of amino acids in lambs fed diets based on alkaline hydrogen peroxide-treated wheat straw, *J. Anim. Sci.* 69, 4939-4950
- WILLMS, C.L., L. BERGER, N.R. MERCHEN UND G.C. FAHEY JR. (1991B)**  
Effects of supplemental protein source and level of urea on intestinal amino acid supply and feedlot performance of lambs fed diets based on alkaline hydrogen peroxide-treated wheat straw, *J. Anim. Sci.* 69, 4925-4938
- WITT, M.W., L.A. SINCLAIR, R.G. WILKINSON UND P.J. BUTTERY (1999A)**  
The effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on the metabolism and growth of ram lambs given food at a restricted level, *Anim. Sci.* 69, 627-636
- WITT, M.W., L.A. SINCLAIR, R.G. WILKINSON UND P.J. BUTTERY (1999B)**  
The effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on the production and metabolism of sheep: food characterization and growth and metabolism of ewe lambs given food ad libitum, *Anim. Sci.* 69, 223-235
- WITT, M.W., L.A. SINCLAIR, R.G. WILKINSON UND P.J. BUTTERY (2000)**  
The effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on milk production and metabolism of ewes offered grass silage based diets, *Anim. Sci.* 71, 187-195
- WOLIN, M.J. (1979)**  
The rumen fermentation: a model for microbial interactions in anaerobic ecosystems, *Adv. Microbial. Ecol.* 3, 49-77
- WOLIN, M.J. UND T.L. MILLER (1988)**  
Microbe-microbe interactions, in: *The rumen microbial ecosystem*, Hrsg.: P.N.Hobson, Elsevier Science Publishers, New York

---

# Kapitel 4

---

AUSWIRKUNG VON PROTEINTRÄGERN  
UNTERSCHIEDLICHER  
RUMINALER ABBAUBARKEIT UND  
AMINOSÄURENZUSAMMENSETZUNG AUF  
MAST- UND SCHLACHTLEISTUNG  
SOWIE NÄHRSTOFFAUSSCHEIDUNG VON  
MASTLÄMMERN

### 4.1 Literaturübersicht

#### 4.1.1 Die Proteinversorgung des Wirtstiers

Wiederkäuer sind in ihrer N-Versorgung primär nicht von einer Protein- bzw. AS-Zufuhr über das aufgenommene Futter abhängig, da die Mikroben im Pansen aus Harnstoff und Ammoniumsalzen ausreichend Protein für die Erhaltung und für moderate Leistungen des Wirtstiers bilden können, wie beispielsweise eine Milchmenge von 4200 kg in der Untersuchung von VIRTANEN (1966) bestätigt.

Wenn jedoch die mikrobielle Proteinsynthese eingeschränkt ist oder ein hoher Protein- bzw. AS-Bedarf besteht, vermag das im Pansen synthetisierte mikrobielle Protein den AS-Bedarf des Wirtstiers nicht mehr zu decken (MERCHEM UND TITGEMEYER, 1992). Ein hoher AS-Bedarf tritt in erster Linie bei hohen Leistungen in Form von Fleisch, Milch und Wolle auf (SHIRLEY, 1986). So sind auch Lämmer mit einer hohen Wachstumsintensität nicht in der Lage, ihr Wachstumspotential allein durch mikrobielles Protein auszuschöpfen (JONES ET AL., 1996; MANSO ET AL., 1998), da in intensiven Produktionssystemen das Absetzen vom Muttertier bereits in einer frühzeitigen Phase bei einem hohen Proteinbedarf und gleichzeitig noch nicht vollkommen leistungsfähigen Vormägen der Lämmer erfolgt. Dagegen werden extensiv nach dem System der sogenannten natürlichen Aufzucht aufgezogene Lämmer erst zu einem späteren Zeitpunkt abgesetzt, bei dem das mikrobielle Protein bereits den Proteinbedarf erfüllen kann (ØRSKOV, 1992). In diesem Fall muss jedoch eine geringere Wachstumsintensität zugrunde gelegt werden. Denn in der intensiven Lämmeraufzucht bzw. -mast wird die Höhe des Proteinbedarfs besonders deutlich durch die höhere Wachstumsgeschwindigkeit bezogen auf die met. LM im Vergleich zu Kälbern, woraus ein höherer Nettoproteinbedarf junger Lämmer gegenüber Kälbern resultiert (ØRSKOV, 1992).

Der Proteinbedarf setzt sich nach SILVA ET AL. (2007) aus den gewünschten täglichen Zunahmen, dem Entwicklungsstadium der Tiere, der Körperzusammensetzung, dem Geschlecht und der Rasse zusammen.

Um bei einem hohen Leistungsniveau den Proteinbedarf zu erfüllen bzw. das Wachstumspotential der Lämmer auszuschöpfen, ist die Versorgung mit Protein bzw. N auf zweierlei Ebenen sicherzustellen:

1. Einerseits sollte die mikrobielle Proteinsynthese maximiert werden. Auf Basis der N-Versorgung erfolgt dies durch die Bereitstellung von ausreichend im Pansen abbaubaren N, um den N-Bedarf der Pansenmikroben zu erfüllen. Weitere Einflussfaktoren auf die mikrobielle Proteinsynthese wurden bereits in Kapitel 3 behandelt.

2. Gleichzeitig müssen die Grenzen der mikrobiellen Proteinsynthese bekannt sein und berücksichtigt werden, um bei einem hohen Proteinbedarf zusätzliches Protein in der Ration bereitzustellen. Letzteres ergänzt als Bypassprotein am Duodenum idealerweise das Aminosäurenmuster des mikrobiellen Proteins.

Diese beiden Ansätze sollen in den folgenden Ausführungen behandelt werden.

### 4.1.1.1 Limitierung der mikrobiellen Proteinsynthese

Das mikrobielle Protein ist grundsätzlich als hochwertig für den Körperansatz einzustufen, da die AS-Zusammensetzung in etwa der des Muskelgewebes entspricht (NOLAN UND DOBOS, 2005) siehe Tabelle 37). Zwischen der AS-Zusammensetzung der Wolle und der des mikrobiellen Proteins bestehen ebenfalls nur geringe Unterschiede ausgenommen die schwefelhaltige AS Cystein und das Lysin.

Tabelle 37: Aminosäurenmuster von mikrobiellem Protein, Fleisch und Wolle

Aminosäure	Mikrobielles Protein g AS/100 g Protein	Lammfleisch g/16 g N	Wolle g/16 g N
Isoleucin	5,8	4,6	3,4
Leucin	8,0	7,2	9,4
Lysin	9,2	9,8	3,0
Methionin	2,5	2,6	0,7
Cystein	1,4	1,3	10,9
Phenylalanin	5,3	3,8	4,0
Tyrosin	4,9	3,5	6,1
Threonin	5,7	4,6	6,5
Tryptophan	1,5	1,3	1,7
Valin	5,8	4,8	5,1
Arginin	5,3	6,1	10,1
Histidin	2,1	3,2	0,8

Quelle: ØRSKOV, 1992

Bei jungen Tieren übersteigt, wie bereits angeführt, der Proteinbedarf das Leistungsvermögen der mikrobiellen Proteinsynthese. So deckt der Beitrag der mikrobiellen Proteinsynthese bei einem Lamm von 20 kg LM und täglichen Zunahmen von 300 g noch etwa 60 % des Gesamtproteinbedarfs ab; bei entsprechender Leistungssteigerung sinkt der mikrobielle Beitrag noch weiter ab (ØRSKOV, 1980).

Auch die AS-Zusammensetzung des mikrobiellen Proteins, wie in Tabelle 37 dargestellt, ist nicht als Konstante zu betrachten, was über einen langen Zeitraum angenommen wurde (ATASOGLU UND WALLACE, 2003). Denn eine umfangreiche Arbeit von HVELPLUND ET AL.

(2001) zeigt Variationen in der Zusammensetzung des mikrobiellen Proteins, insbesondere bei den AS Lysin und Methionin auf. Generell besitzt das mikrobielle Protein jedoch einen höheren Gehalt an Lysin und Methionin als pflanzliche Proteinquellen (WALLACE, 1994).

Des Weiteren ist der N-Gehalt der Pansenbakterien ebenfalls variabel und wird von den bakteriellen Spezies sowie ihren Wachstumsbedingungen bestimmt (SCHWAB, 1995).

### 4.1.1.2 Bypassprotein als Proteinquelle

Da junge Lämmer in der Lage sind, weit mehr N zu retinieren als durch das mikrobielle Protein bereitgestellt werden kann (ØRSKOV ET AL., 1972), gilt es die Lücke im N-Bedarf durch andere Proteinquellen zu schließen. Dabei ist es nicht sinnvoll, über den N-Bedarf der Pansenmikroben hinaus abbaubaren N zu verabreichen, da dieser ungenutzt vom Tier wieder ausgeschieden wird. Dagegen kann eine Kombination aus ruminal abbaubarem N für die Mikroben und einer Bypass-Proteinquelle, deren AS unabgebaut den Dünndarm erreichen, die Menge an absorbierbaren AS nicht verbessern (KREHBIEL UND FERRELL, 1999).

Die Menge des am Duodenum zur Verfügung stehenden Bypassproteins bzw. im Pansen unabgebauten Futterproteins (UDP) wird vom abbaubaren Anteil des insgesamt aufgenommenen Proteins, der Abbaugeschwindigkeit und der Verweilzeit der Proteinquelle im Pansen bestimmt (SCHWAB, 1995). Diese Faktoren wiederum sind von der proteolytischen Aktivität im Pansen, der mikrobiellen Angreifbarkeit des Proteins, dem Fütterungsniveau, der Nährstoffzusammensetzung der Gesamtration, der physikalischen Form der Futtermittel, der Proteinlöslichkeit und dem pH-Wert im Pansen abhängig (SCHWAB, 1995). UDP-Gehalte verschiedener Futtermittel sind in Tabelle 38 dargestellt.

Positive Effekte von Bypassproteinträgern auf die tierische Leistung sind nach CHALUPA (1975) verstärkt bei jungen wachsenden Wiederkäuern zu beobachten.

So konnten SHERROD ET AL. bereits im Jahre 1962 durch Autoklavieren von Sojaextraktions- bzw. Baumwollextraktionsschrot höhere täglichen Zunahmen und eine verbesserte Futtermittelerwertung bei Lämmern erzielen. Verlängertes Erhitzen von Sojaextraktionsschrot, welches den Abbau der Proteinquelle im Pansen stark herabsetzt, führte in der Studie von GLIMP ET AL. (1967) bei früh abgesetzten Lämmern ebenfalls zu einer Steigerung der täglichen Zunahmen verbunden mit einer verbesserten N-Retention.

In einer Arbeit aus neuerer Zeit verabreichte URBANIAK (1995) an wachsende polnische Merinolämmer isonitrogene (15,5 % XP) und isoenergetische Rationen (11,2 MJ ME). Die verwendeten Rationen unterschieden sich im Bypassanteil des Proteinträgers mit abnehmenden Gehalten von Blutmehl (74 %) über Fischmehl (62 %) und Sojaextraktionsschrot (38 %) bis hin

zu Casein (11 %). Letztgenannte Proteinsupplementierung erbrachte signifikant niedrigere tägliche Zunahmen gegenüber allen anderen Proteinquellen. Ebenso verhielt es sich beim Protein- bzw. Energieaufwand je kg Ansatz, während das Ausmaß der Abbaubarkeit der Proteinträger auf die chemische Zusammensetzung des Schlachtkörpers keinen Einfluss hatte.

Inzwischen wird in verschiedenen Futterbewertungssystemen wie ARC (1980) und NRC (2007) beim Proteinbedarf für wachsende Lämmer ein UDP-Anteil berücksichtigt.

In der Literatur sind jedoch auch Studien zu finden, bei denen der Einsatz von Bypassproteinquellen keine positiven Auswirkungen mit sich brachte.

So konnten HUSSEIN UND JORDAN (1991) bei Austausch von Sojaextraktionsschrot gegen Fischmehl, welches einen höheren Bypassanteil aufweist, nur eine tendenzielle Steigerung der täglichen Zunahmen sowie der Futtermittelverwertung beobachten. Die Autoren führen dies auf den Körnermaisanteil (85-91 %) der Rationen zurück. In den Untersuchungen von LOERCH UND BERGER (1981), PLEGGÉ ET AL. (1983) und KNAUS ET AL. (2001) konnten langsam abbaubare N-Quellen das Wachstum von Lämmern und Bullen nicht signifikant verbessern. Auch diese Rationen enthielten als Basalration Maisprodukte in Form von Maissilage, Feuchtm Mais oder gebrochenem Mais. Bei den genannten Versuchen könnte, wie auch in der Untersuchung von REMPPIS ET AL. (2006) angeführt, aufgrund der Beständigkeit des Maisproteins gegenüber dem mikrobiellen Abbau in Verbindung mit einem pansenstabilen Proteinträger ein N-Mangel im Pansen aufgetreten sein, welcher die mikrobielle Proteinsynthese verminderte und damit mögliche positive Effekte der Bypassproteinquelle kaschierte.

### **4.1.1.3 Der AS-Bedarf des Wirtstiers**

Der AS-Bedarf eines Wiederkäuers richtet sich nach seinem Leistungsniveau bzw. nach der Menge angesetzten Proteins (TITGEMEYER, 2003), wobei der Nettobedarf an AS bei schnell wachsenden Wiederkäuern hoch anzusetzen ist (MANSO ET AL., 1998). Deshalb empfiehlt das NRC (1985) bei Wiederkäuern mit hoher Leistung den Einsatz von langsam abbaubaren Proteinquellen, um die AS-Versorgung am Dünndarm zu verbessern.

Beim Wiederkäuer werden generell dieselben AS wie beim Monogastrier zuzüglich Arginin als essentiell betrachtet (BUTTERY UND FOULDS, 1985). Einzig bei Histidin gibt es unterschiedliche Ansichten. STORM UND ØRSKOV (1984) betrachten Histidin als essentielle AS für Lämmer, während ONODERA UND KOGA (1987) gegenteiliger Meinung sind.

Lysin, Methionin, Arginin und Histidin stellen limitierende AS für wachsende Lämmer bei mikrobiellem Protein als alleiniger Proteinquelle nach STORM UND ØRSKOV (1984) dar. Bei ausschließlicher Harnstoffgabe als N-Quelle sind nach NIMRICK ET AL. (1970A,B) Methionin,

Tabelle 38: Aminosäuren und XP- und UDP-Gehalte verschiedener Futtermittel (%)

Futtermittel	XP	UDP*	UDP <sup>#</sup>	Met	Cys	Lys	Thre	Try	Arg	Ile	Leu	Val
Gerste	10,6	34	25	0,18	0,24	0,38	0,36	0,12	0,53	0,37	0,73	0,52
Hafer	12,5	23	15	0,22	0,36	0,53	0,44	0,14	0,87	0,48	0,92	0,66
Mais	8,5	57	50	0,18	0,19	0,25	0,31	0,06	0,40	0,29	1,05	0,41
Sorghum	9,3	57	50	0,17	0,17	0,22	0,31	0,10	0,38	0,37	1,21	0,46
Ackerbohnen	25,4	19	15	0,20	0,32	1,63	0,90	0,22	2,29	1,03	1,89	1,15
Erbsen	20,9	24	15	0,21	0,31	1,50	0,78	0,19	1,87	0,86	1,51	0,98
Sojaextr.schrot	47,6	37	30	0,69	0,71	2,98	1,89	0,61	3,52	2,16	3,71	2,23
Rapsextr.schrot	34,3	34	30	0,69	0,87	1,86	1,50	0,45	2,08	1,34	2,39	1,75
Maiskleber	60,6	69	50	1,43	1,09	1,02	2,08	0,31	1,93	2,48	1,02	2,73
Kartoffelprotein	73,8	68	-	1,68	1,20	5,83	4,30	1,02	3,80	4,09	7,61	4,89
Luzernegrünmehl	17,0	46	45	0,25	0,18	0,74	0,70	0,24	0,71	0,68	1,21	0,86

Quellen: Degussa, 1996, \* CVB, 2000, <sup>#</sup> DLG, 1997

Lysin und Threonin begrenzend im mikrobiellen Protein. Über die meistlimitierende AS bei Lämmern findet man in der Literatur kontroverse Angaben (SCHELLING UND HATFIELD, 1968; NIMRICK ET AL., 1970; SCHELLING ET AL., 1973), da beim Schaf der Einfluss des Wollwachstums berücksichtigt werden muss. Schafwolle enthält hohe Konzentrationen an Cystein und für die Wollproduktion werden hohe Mengen schwefelhaltige AS benötigt, die entweder direkt als Cystein oder als Methionin für die Produktion von Cystein verabreicht werden müssen (TITGEMEYER, 2003). Das Wollwachstum beträgt etwa 1-2 g N/d (ØRSKOV, 1992), während die mittlere N-Retention bei 25-30 kg schweren Lämmern für den Körperansatz bei etwa 8 g/d liegt (siehe Kapitel 3). Damit beträgt der Bedarf für die Wollproduktion ungefähr ein Viertel des Bedarfes für den Körperansatz, was ØRSKOV (1992) bestätigt. Die oben genannten Studien wiesen oft lediglich niedrige Wachstumsraten auf, so dass dadurch eventuell das Verhältnis Wollwachstum zu Körperansatz verschoben worden sein könnte und somit den schwefelhaltigen AS eine höhere Bedeutung beigemessen wurde. Deshalb könnte man annehmen, dass bei einem hohen Körperproteinansatz Lysin als erstlimitierende AS im Vordergrund steht, wie auch bei anderen wachsenden Tieren wie z.B. Kälbern oder Ferkeln (JEROCH ET AL., 2008; KIRCHGESSNER ET AL., 2008).

Die Aminosäurenanflutung im Dünndarm setzt sich aus der Summe der Aminosäuren des mikrobiellen Proteins, des unabgebauten Futterproteins und einem geringen Anteil endogener AS zusammen (SCHWAB, 1995). Aus den in Tabelle 38 dargestellten UDP-Gehalten und dem

AS-Muster der einzelnen Futtermittel wird deutlich, dass sich mit zunehmendem Einsatz von Futtermitteln mit hoher Pansenbeständigkeit des Rohproteins das AS-Profil am Duodenum vom mikrobiellen Protein unterscheidet, sofern man eine Übereinstimmung der AS-Zusammensetzung von Futter und UDP annimmt. Demnach kann die Zusammensetzung des UDP bzw. dessen Qualität beeinflussen, welche AS limitierend sind (MERCHEN UND TITGEMEYER, 1992).

### **4.1.2 Verbesserung der tierischen Leistung als Strategie zur Verminderung von N- und CH<sub>4</sub>-Eintrag in die Umwelt**

#### Stickstoff

Die Effizienz der N-Nutzung ist beim Wiederkäuer in der Regel niedrig und führt einerseits zu hohen Futterkosten, andererseits zu hohen N-Ausscheidungen in die Umwelt (SCHROEDER UND TITGEMEYER, 2008). Je nach Nutzungstyp (z.B. Milch, Fleisch) und Leistung werden 60 bis 90 % des aufgenommenen N über Kot und Harn wieder ausgeschieden (FLACHOWSKY UND LEBZIEN, 2006). Bei Lämmern beträgt die Umwandlung von Rationsprotein in Körperprotein lediglich 13 % (LOBLEY, 1992), und auch bei Mastrindern werden nach BIERMAN ET AL. (1996) über 89 % des aufgenommenen N wieder ausgeschieden.

Dementsprechende Bedeutung kommt der Verbesserung der N-Nutzung bei intensiv gemästeten und milchliefernden Tieren zu, da diese ausschlaggebend ist für eine Verringerung der N-Verluste und für eine Verbesserung des Gewinns.

Ansatzmöglichkeiten zur Verbesserung der N-Nutzung bieten nach TAMMINGA (1992):

1. XP-Gehalt der Ration
2. Reduzierte ruminale Abbaubarkeit des XP
3. Steigerung der Effizienz der N-Nutzung durch die mikrobielle Proteinsynthese
4. Leistungssteigerung

Steigende Rohproteingehalte in der Ration führen zu einer verstärkten Harn-N-Ausscheidung, während sich die Exkretion von Kot-N ab etwa 13 % XP in der Ration unabhängig von der N-Zufuhr proportional zur TS-Aufnahme verhält (KIRCHGESSNER ET AL., 1993). Bei jeder Erhöhung des XP-Gehaltes der Ration steigt die Gülle N-Ausscheidung um 1,85 g N je kg aufgenommener TS (KIRCHGESSNER ET AL., 1991). Ursache ist der zunehmende ruminale Abbau von Futterprotein zu NH<sub>3</sub>, welches von den Mikroben nicht schnell genug in mikrobielles

## Kapitel 4

Protein überführt werden kann (MAENG ET AL., 1997). Der Überschuss wird dann absorbiert und zur Leber transportiert, wo das Ammoniak in Harnstoff umgewandelt und ausgeschieden wird. Nach Angaben von MORRISON UND MACKIE (1996) machen diese Überschüsse bei Milchkühen einen Anteil von bis zu 20 % des gefütterten Proteins aus. Eine pansenphysiologisch adäquate Ration für eine Milchkuh erfordert einen Mindestgehalt XP-Gehalt von 13 %.

RINGDORFER (1997) führte einen Lämmermastversuch mit vier XP-Stufen (13, 15, 17 und 19 %) sowie drei Kraftfutteranteilen (40, 60, 80 %) durch. Es zeigte sich, dass eine Steigerung des XP-Gehaltes der Ration ausschließlich bei niedriger Energieversorgung die Mastleistung erhöhte und bei einem KF:GF-Verhältnis von 80: 20 eine weitere Erhöhung des XP-Gehalt über 15 % keine Steigerung in den täglichen Zunahmen nach sich zog, stattdessen sogar ein leichter Abfall zu erkennen war.

Tabelle 39: Stickstoff -und Methanexkretion in Abhängigkeit vom Leistungsniveau bei Milchkühen (FLACHOWSKY UND LEBZIEN, 2005)

Milchleistung kg/Kuh und Jahr	Stickstoffausscheidung		Methanausscheidung	
	kg N/Kuh und Jahr	g/kg Milch	kg CH <sub>4</sub> /Kuh und Jahr	g/kg Milch
4000	70	18	110	28
6000	80	14	121	20
8000	93	12	129	16
10 000	108	11	136	13,5
12 000	125	10,5	142	12

Eine Leistungssteigerung in Form von einer Erhöhung der Milchleistung bzw. einer Verkürzung der Mastdauer wirkt sich ebenfalls positiv auf die N-Ausscheidungen aus. So steigt zwar die absolute Höhe der je Tier ausgeschiedenen N-Menge, während jedoch die N-Ausscheidung in Gramm je kg Milch sinkt (FLACHOWSKY UND LEBZIEN, 2005).

Eine Verkürzung der Mast senkt durch die verminderte Mastdauer ebenfalls die N-Ausscheidung. Daraus kann abgeleitet werden, dass eine Verbesserung der N-Nutzung einen positiven Einfluss auf die Effizienz der tierischen Produktion und auf die Umwelt ausübt (BENCHAAR ET AL., 2008)

### Methan:

Generell führt die Proteinerzeugung in Form von Fleisch zu deutlich höherer CH<sub>4</sub>-Emission als die Milcherzeugung (FLACHOWSKY UND BRADE, 2007). Bezogen auf das Schaf unterliegt der Fleischverbrauch in den einzelnen Ländern starken Schwankungen, jedoch ist bemerkenswert,

dass Schaffleisch den höchst gehandelten Anteil der Gesamtfleischproduktion mit einem Exportvolumen von 16 % der gesamten Weltproduktion darstellt (SAÑUDO ET AL., 2007).

Nach Schätzungen der FAO (2006) soll sich aufgrund der steigenden Weltbevölkerung der Fleischverbrauch von 229 Millionen t im Jahre 2006 bis zum Jahr 2050 verdoppeln. Auch die geschätzte benötigte Milcherzeugung des Jahres 2050 steigt nahezu um den Faktor zwei. Für die Erfüllung dieser Vorgaben sind hohe tierische Leistungen notwendig, die gleichzeitig die effektivste Form zur Reduzierung der CH<sub>4</sub>-Emission je kg essbares Protein bieten (FLACHOWSKY, 2008).

Beim Schaf bzw. Lamm kommen folgende leistungssteigernde Möglichkeiten in Frage:

1. Höhere tägliche Zunahmen durch

- bedarfsgerechte Rationsgestaltung
- gezielte Verwendung von Gebrauchskreuzungen oder Fleischrassen für die Fleischproduktion
- Steigerung des Zuchtfortschritts

2. Höhere Nutzungsdauer der Muttertiere

- gezielte Selektion nach Langlebigkeit und Gesundheit

3. Steigerung der Fruchtbarkeit der Muttertiere

- Erhöhung der Produktivitätszahl
- Einsatz von asaisonalen Rassen mit ganzjähriger Ablammungsmöglichkeit

Gleichzeitig muss jedoch berücksichtigt werden, dass durch extensive Beweidungsformen die Schafhaltung maßgeblich zum Küstenschutz (Deichpflege) sowie zur Offenhaltung von Grünlandflächen (Landschaftpflege) beiträgt, welche nicht in Form eines intensiven Lammfleischproduktionssystems bewirtschaftet werden können. Auch dürfen andere klimarelevante Gase bei der Betrachtung nicht außer acht gelassen werden. Beispielsweise ist im Grünland mehr CO<sub>2</sub> gebunden als im tropischen Regenwald.

### **4.1.3 Ausgangspunkt für die eigenen Untersuchungen**

In Kapitel 3 erzielten jeweils die Rationen mit der langsam abbaubaren Proteinquelle die höchsten N-Retentionen.

In diesem Versuch sollten nun vier Futterrationen, die sich allein durch den Protein- bzw. N-Träger unterschieden, über einen längeren Zeitraum (Mastperiode) verabreicht werden. Die Protein- bzw. N-Träger wurden gestaffelt nach ihrer Abbaubarkeit, um den Einfluss des unterschiedlichen Proteinbypasses auf verschiedene Mast- und Schlachtleistungsparameter zu untersuchen, wobei jedoch gleichzeitig ausreichend im Pansen abbaubarer N zur Verfügung stehen sollte, um die mikrobielle Proteinsynthese nicht zu begrenzen.

Gleichzeitig sollte überprüft werden, ob die Aminosäurezusammensetzung des UDP Einfluss auf die Mast- und Schlachtleistung nimmt.

### 4.2 Material und Methoden

#### 4.2.1 Versuchstiere und Haltung

Der Mastversuch wurde mit 40 Lämmern der Rasse Merinolandschaf durchgeführt, die in vier Fütterungsgruppen mit jeweils fünf männlichen und fünf weiblichen Tieren unterteilt wurden. Geschwisterlämmer wurden in unterschiedliche Gruppen eingeteilt, um genetische Einflüsse auf die Versuchsergebnisse zu vermeiden. Ebenfalls wurde auf eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Einlings- und Zwillinglämmer auf die einzelnen Fütterungsgruppen geachtet. Die Tiere wiesen bei Versuchsbeginn ein mittleres Alter von 61 Tagen auf und wogen durchschnittlich 24,3 kg. Vor Versuchsbeginn wurden die Tiere entwurmt und gegen Kokzidien behandelt. Die Haltung der Lämmer erfolgte auf Stroheinstreu in einem klimatisierten Stall. Die Lebendmasse der Tiere wurde über die gesamte Mastperiode hinweg jeweils im Abstand von sieben Tagen morgens mit einer geeichten Waage erfasst. Das vorgesehene Mastendgewicht bezogen auf die genücherte Lebendmasse betrug bei Bocklämmern 42 kg, bei weiblichen Lämmern 39 kg.

#### 4.2.2 Rationsgestaltung und Fütterung

Die Lämmer erhielten eine Futtermischung aus 75 % pelletiertem Kraftfutter und 25 % Heu. Die Heumenge wurde im Rahmen des wöchentlichen Wiegens kontinuierlich angepasst, wobei eine TM-Aufnahme von 85 g/kg met. LM zugrundegelegt wurde. Das Heu wurde den Lämmern einmal täglich über Futterraufen vorgelegt, das Kraftfutter stand ad libitum zur Verfügung und wurde alle drei bis vier Tage komplett erneuert. Täglich wurden die mehlartigen Futterreste aus dem Futterautomaten entfernt und zurückgewogen. Die Futteraufnahme der Tiere wurde gruppenweise ermittelt. Leitungswasser stand den Tieren jederzeit zur Verfügung.

Die Kraftfuttermischungen setzten sich aus Gerste als Hauptkomponente kombiniert mit den Proteinträgern Maiskleber (MK), Kartoffelprotein (KP), Ackerbohnen (AB) und Harnstoff (HA) zusammen, nach deren Abkürzungen die Gesamtrationen im Folgenden bezeichnet werden. Diese Proteinträger unterschieden sich sowohl hinsichtlich ihrer Protein- bzw. N-Abbaubarkeit als auch hinsichtlich der Qualität ihrer AS-Zusammensetzung. Maiskleber und Kartoffelprotein besitzen eine niedrige Proteinabbaubarkeit im Vergleich zu Ackerbohnen und Harnstoff. Die AS-Zusammensetzung des Proteins von Kartoffel und Ackerbohnen ist günstiger als bei Maiskleber, Harnstoff besitzt als NPN-Verbindung keine AS.

Die Kraftfuttermischungen waren isonitrogen und isoenergetisch konzipiert. Die genaue Komponenten- und Nährstoffzusammensetzung der Versuchsrationen ist aus Tabelle 40 ersichtlich.

Tabelle 40: Futtermittel- und Nährstoffzusammensetzung der Futterrationen

Ration	MK	KP	AB	HA
----- in % der Trockenmasse -----				
Heu 2. Schnitt	25,0	25,0	25,0	25,0
Gerste	58,8	61,6	44,6	65,4
Maiskleber	11,2	-	-	-
Kartoffelprotein	-	8,4	-	-
Ackerbohnen	-	-	25,4	1,5
Harnstoff	-	-	-	2,1
Mineralfutter	3,0	3,0	3,0	3,0
Pflanzenöl	2,0	2,0	2,0	3,0
Nährstoffzusammensetzung der Ration (berechnet)				
----- in % der Trockenmasse -----				
XP	15,6	15,6	15,6	15,6
XL	4,5	4,7	4,5	5,7
XF	10,3	10,5	11,1	10,8
ME	13,1	13,1	13,1	12,9

### 4.2.3 Schlachtung und Schlachtkörperbeurteilung

Bei Erreichen des angestrebten Mastendgewichts wurden die Lämmer nach 24-stündiger Nüchterung gewogen und anschließend geschlachtet. Der Schlachtprozess sowie das Ausbluten erfolgten praxisüblich. Am Schlachtkörper wurden nach 24-stündiger Fleischreifung (mit Ausnahme des pH-Werts) folgende Parameter bestimmt:

#### **pH-Wert:**

An der 13. Rippe des M. longissimus dorsi wurde 45 Minuten und 24 Stunden nach der Schlachtung der pH-Wert mit einem pH-Meter CG 482 unter Verwendung einer Einstichelektrode der Firma SCHOTT bestimmt.

#### **Schlachtgewicht:**

Vom bei 4 °C gekühlten Schlachtkörper wurde das Schlachtkörpergewicht kalt, abzüglich des Kopfes und der Geschlechtsorgane mit einer geeichten Waage erfasst.

### **Rückenlänge:**

Am Schlachtkörper erfolgte von innen zwischen dem fünften und sechsten Brustwirbel und dem letzten (sechsten) Lendenwirbel jeweils ein Durchstich, deren Abstand die Rückenlänge ergab.

### **Nierenfettmenge:**

Die Nieren wurden mit dem umgebenden Nierenfett bis zum Übergang in die Beckenhöhle aus dem Schlachtkörper entnommen. Daraufhin wurde das Nierenfett von der Niere abgetrennt und gewogen.

### **Rückenmuskelfläche:**

Die Kotelettflächen im Querschnitt des M. longissimus dorsi werden als Rückenmuskelflächen bezeichnet. Für die Messung der Kotelettflächen wurde der Schlachtkörper zwischen der zehnten und elften Rippe durchstoßen, das Fleisch entlang der Rippen aufgeschnitten und die Wirbelsäule an diesem Punkt durchtrennt. Die Fläche des linken und rechten M. longissimus dorsi wurde auf Pergamentpapier aufgetragen und später mit einem Planimeter der Firma OTT gemessen.

### **Rückenfettauflage:**

Am Anschnitt zwischen der zehnten und elften Rippe wurde die subkutane Fettauflage mit einer Schieblehre einen Zentimeter rechts und links des Dornfortsatzes bestimmt.

### **Handelsklasseneinteilung nach EUROP:**

Die Einstufung der Schlachtkörper wurde von zwei sachkundigen Personen mit langjähriger Erfahrung vorgenommen. Der Klassifizierung liegt eine subjektive, optische Bewertung der Parameter Fleischigkeit und Verfettung zugrunde (siehe Tabelle 41 und 42).

## Kapitel 4

Tabelle 41: Fleischigkeitsklassen nach dem Anhang I der Rats-Verordnung Nr. 2137/90 und dem Anhang II der Kommissionsverordnung Nr. 461/93 der EU

<b>Fleischigkeits- klasse</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Zusätzliche Bestimmungen</b>
E vorzüglich	Alle Profile konvex bis äußerst konvex außergewöhnliche Muskelfülle	Keule: sehr dick und abgerundet Rücken: sehr abgerundet, an der Schulter sehr breit und dick Schulter: sehr abgerundet und dick
U sehr gut	Profile insgesamt konvex; sehr gute Muskelfülle	Keule: dick und abgerundet Rücken: an der Schulter breit und dick Schulter: dick und abgerundet
R gut	Profile insgesamt geradlinig; gute Muskelfülle	Keule: flach Rücken: dick, an der Schulter weniger breit Schulter: gut entwickelt, weniger dick
O mittel	Profile geradlinig bis konkav; durchschnittliche Muskelfülle	Keule: geringfügig einfallend Rücken: weniger breit und dick Schulter: fast schmal, ohne Dicke
P gering	Profile konkav bis sehr konkav; geringe Muskelfülle	Keule: eingefallen bis stark eingefallen Rücken: schmal und eingefallen mit hervorstehenden Knochen Schulter: schmal, flach mit hervorstehenden Knochen

Quelle: NADERER, 1998

Für die statistische Auswertung der Fleischigkeitsklassen wurden für die Buchstaben E bis P die Zahlen 1-5 verwendet.

Tabelle 42: Einteilung in Fettgewebssklassen

<b>Fettgewebssklassen</b>	<b>Fettabdeckung</b>
1 sehr gering	Keine bis sehr gering Fettabdeckung
2 gering	Leichte Fettabdeckung, Muskulatur fast überall sichtbar
3 mittel	Muskulatur mit Ausnahme von Hinterviertel und Schulter fast überall mit Fett abgedeckt, leichte Fettansätze in der Brusthöhle
4 stark	Muskulatur mit Fett abgedeckt, an Hinterviertel und Schulter jedoch noch teilweise sichtbar; einige deutliche Fettansätze in der Brusthöhle
5 sehr stark	Schlachtkörper dick mit Fett abgedeckt; starke Fettansätze in der Bauchhöhle

Quelle: NADERER, 1998

SCHIEFER UND SCHARNER (1977) untersuchten die Muskeln *M. longissimus dorsi*, *M. semitendinosus*, *M. semimembranosus*, *Mm. Adductores*, *M. gluteobiceps*, *M. triceps*, *M. serratus ventralis*, *M. quadriceps femoris*, *M. gluteus*, *M. triceps*, *M. infra spinam*, *M. supra spinam* und *M. psoas major* hinsichtlich ihrer Vergleichbarkeit bei verschiedenen Parametern der Muskelfleischqualität bei Lämmern. Dabei korrelierten pH-Wert, Farbhelligkeit, Saffthaltevermögen, Koch- und Bratverlust des *M. longissimus dorsi* eng mit den Werten aller anderen untersuchten Muskeln. Die Autoren folgerten daraus die Repräsentativität des *M. longissimus dorsi* für den gesamten Schlachtkörper. Aufgrund dessen wurden für die Parameter der Fleischfarbe und des pH-Wertes gezielt Proben vom *M. longissimus dorsi* entnommen.

### **4.2.4 Probenentnahme vom *M. longissimus dorsi***

Zwischen dem 10. und 13. Brustwirbel erfolgte ein Ablösen des *M. longissimus dorsi* auf beiden Seiten der Wirbelsäule. Ein Teil der Proben wurde für die Bestimmung der Fleischfarbe bei 4 °C gelagert. Der andere Teil der Proben wurde für die spätere chemische Analyse bei -20 °C tiefgefroren.

### **4.2.5 Bestimmung der Fleischfarbe des *M. longissimus dorsi***

Das gekühlte Fleisch des *M. longissimus dorsi* wurde 48 h nach der Schlachtung längs der Fasern aufgeschnitten und einer achtmaligen Farbanalyse mit einem Chromameter CR-200 der Firma MINOLTA unterzogen. Als Farbsystem für die Messung der absoluten Farbkoordinaten diente das L\*a\*b System der Internationalen Energiekommission (CIE-Colorimetry 1986). In diesem System entsprechen gleiche geometrische Abstände auch ungefähr gleich visuell empfundenen Farbunterschieden. L ist der relative Helligkeitsfaktor in einer Skala von 0 bis 100, wobei 0 schwarz und 100 weiß bedeutet. Die Buchstaben a\* und b\* stellen die Farbkoordinaten dar. Weisen diese Farbkoordinaten positive Werte auf, so steht a\* für den relativen Rotwert und b\* für den relativen Gelbwert des Fleisches. Eine Kalibrierung des Chromameters gegen den Weißstandard fand zu Beginn und am Ende jeden Messtages statt.

### **4.2.6 Chemische Analyse des *M. longissimus dorsi***

Für die Untersuchung des Fleisches auf seine Gehalte an Trockensubstanz, Rohasche, Rohfett und Rohprotein war eine vorherige Aufbereitung der Fleischproben notwendig. Deshalb wurde das Fleisch nach dem Auftauen zuerst mit einem Messer grob zerkleinert und dann unter Zugabe von 50 % Wasser mit einem Ultra-Turrax zu einem homogenen Brei verarbeitet.

Die durchgeführten Analysen basieren auf der chemisch-physikalischen Untersuchung von Fleisch- und Fleischerzeugnissen nach der Methodensammlung von FISCHER et al. (2002).

### **4.2.6.1 Bestimmung des intramuskulären Trockensubstanzgehalts**

Eine Dreifachprobe des Fleischbreis von etwa 10 g wurde mit gereinigtem Seesand vermischt und gemäß der Methode der Amtlichen Untersuchungsverfahren nach § 35 L06.00-3 des LMBG bei 103°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Gewichtsverlust des Fleisches entspricht seinem Wassergehalt.

### **4.2.6.2 Bestimmung des intramuskulären Fettgehalts**

Der Trocknungsrückstand von der Bestimmung des Trockensubstanzgehalts wurde in Extraktionshülsen eingefüllt. Dann erfolgte in Glaskolben auf der Grundlage der Methode nach Soxhlet, modifiziert mit einer Twisselmann-Apparatur über vier anstatt sechs bis acht Stunden eine Fettextraktion mit Petroleumbenzin. Nach der Extraktion wurden die Glaskolben über Nacht stehen gelassen und dann bei 75°C unter 50 mm Hg Unterdruck im Vakuumschrank getrocknet. Nach dem Abkühlen wurde der erhaltene Extrakt gewogen.

### **4.2.6.3 Bestimmung des intramuskulären Rohproteingehalts**

Jeweils drei Proben von 1,5 g Fleischbrei wurden in N-freies Papier eingewogen und nach der Methode von Kjeldahl auf ihren Gesamtstickstoffgehalt hin untersucht. Dabei wurde in einem Aufschluss mit konzentrierter Schwefelsäure der Probenstickstoff in Ammoniumsulfat überführt. Bei der anschließenden Destillation wurde Ammoniak freigesetzt, dessen Stickstoffgehalt mit Hilfe von Borsäure titrimetrisch erfasst wurde.

### **4.2.7 Statistische Auswertung**

Zur Auswertung des Mastversuchs wurde das Statistikprogramm SAS für Windows in der Version 8.2 (2001) eingesetzt. Jeder Parameter wurde einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit den Faktoren Ration und Geschlecht sowie deren Wechselwirkung unterzogen. Die LS-Means wurden berechnet, wobei Unterschiede zwischen den Gruppenmittelwerten der Faktoren mit der Option pdiff (probability of difference) mit  $p < 0,05$  geprüft wurden.

### 4.3 Ergebnisse

#### 4.3.1 Chemische Zusammensetzung der Ration

Tabelle 43: Nährstoffzusammensetzung der Ration

Ration	MK	KP	AB	HA
RDN in % *	64	60	81	85
AS-Qualität UDP	schlecht	gut	gut	schlecht
Rohasche (in % TM)	6,1	6,4	6,8	6,1
Rohprotein (in % TM)	15,0	14,9	15,3	15,0
Rohfett (in % TM)	4,7	4,2	3,9	4,5
Rohfaser (in % TM)	10,6	11,0	11,0	11,3
N-freie Extraktstoffe (in % TM)	63,3	63,5	63,0	63,1
Umsetzbare Energie** (in MJ/kg TM)	12,0	12,0	12,0	12,3

\* ermittelt in vitro mit modifiziertem HFT nach STEINGASS ET AL., 2001

\*\* berechnet aus der Gasbildung nach HFT (STEINGASS UND MENKE, 1986)

Die Rohnährstoff- und Energiegehalte der vier Versuchsrationen bewegten sich auf einem einheitlichen Niveau. Niedriger als kalkuliert (siehe Kapitel 4.2.2) fielen die Analysenwerte beim Rohprotein in allen Rationen sowie beim Rohfett ausgenommen der Ration MK aus. Die umsetzbare Energie erreichte bedingt durch geringere ME-Gehalte der im Versuch verwendeten Futtermittel Gerste und Heu die in der Rationsplanung vorgesehenen 12,9 bzw. 13,1 MJ ME nicht, befand sich mit 12,0 bis 12,3 MJ ME jedoch in einem vergleichbaren Rahmen.

#### 4.3.2 Mastleistung

Die Mastlämmer wiesen zu Versuchsbeginn mit im Mittel 24,2 bis 24,4 kg über die einzelnen Versuchsgruppen sowie zwischen und innerhalb der Geschlechter keine signifikanten Unterschiede in der Lebendmasse auf.

Das aufgrund der geschlechtsspezifisch schnelleren Verfettung weiblicher Lämmer geringer anvisierte Mastendgewicht unterschied sich mit im Mittel 41,0 kg über alle Versuchsgruppen signifikant von dem der männlichen Tiere mit 43,9 kg, während die Futterrationen mit Ausnahme der Gruppe HA (39,5 kg) zu AB (42,0 kg) bei den weiblichen Lämmern keine signifikanten Auswirkungen innerhalb der Geschlechter sowie auf die gesamte Fütterungsgruppe zur Folge hatten. Das vorgesehene Nüchterungsgewicht wurde mit im Mittel 42,2 kg bei den männlichen und 39,4 kg bei den weiblichen Lämmern eingehalten.

Mit zunehmender Stabilität der in den Rationen verwendeten Proteinträger gegenüber dem mikrobiellen Abbau im Pansen wurden jeweils signifikant höhere durchschnittliche tägliche

## Kapitel 4

Zunahmen von 209 über 261 und 310 zu 347 g in den Fütterungsgruppen erzielt. Innerhalb der Geschlechter konnten bei den Bocklämmern ebenfalls jeweils signifikant höhere tägliche Zunahmen zwischen den Gruppen HA bis MK beobachtet werden. Davon ausgenommen waren die Lämmer der Rationen AB (294 g) und HA (229), deren Unterschiede lediglich tendenziell ausfielen. Bei den weiblichen Lämmern folgten die täglichen Zunahmen numerisch derselben Reihenfolge wie die Gesamtgruppe, jedoch konnten gesteigerte tägliche Zunahmen nicht mehr gegenüber dem Proteinträger mit nächst höherer Bypassproteinstufe (z.B. AB zu KP mit 229 bzw. 286 g) sondern erst bei einer weiteren Verstärkung des Durchflussproteinanteils (MK mit 296 g) signifikant abgegrenzt werden. Insgesamt wiesen die Bocklämmer mit 314 g signifikant höhere tägliche Zunahmen auf als die weiblichen Lämmer mit 250 g.

Tabelle 44: Parameter der Mastleistung

Ration	MK	KP	AB	HA	SD <sub>MK</sub>	SD <sub>KP</sub>	SD <sub>AB</sub>	SD <sub>HA</sub>	Ration	Geschl.	R x G
RDN in %	64	60	81	85						P<0,05	
AS-Qualität UDP	schlecht	gut	gut	schlecht							
Einstallgewicht kg	24,4 <sup>a</sup>	24,3 <sup>a</sup>	24,2 <sup>a</sup>	24,4 <sup>a</sup>	2,1	1,7	1,9	1,8	n.s.	n.s.	n.s.
♂	24,6 <sup>a</sup>	24,5 <sup>a</sup>	24,4 <sup>a</sup>	24,7 <sup>a</sup>	2,1	1,7	2,2	1,2			
♀	24,2 <sup>a</sup>	24,1 <sup>a</sup>	24,1 <sup>a</sup>	24,1 <sup>a</sup>	2,2	1,9	1,7	2,3			
Mastendgewicht kg	42,4 <sup>a</sup>	42,7 <sup>a</sup>	42,9 <sup>a</sup>	41,7 <sup>a</sup>	2,4	1,4	1,4	3,5	n.s.	**	n.s.
♂	44,0 <sup>a</sup>	44,0 <sup>a</sup>	43,9 <sup>a</sup>	43,8 <sup>a</sup>	2,0	0,6	0,8	3,1			
♀	40,8 <sup>ab</sup>	41,5 <sup>ab</sup>	42,0 <sup>a</sup>	39,5 <sup>b</sup>	1,7	0,5	1,3	2,6			
Genüchert LM kg	41,0 <sup>a</sup>	40,5 <sup>a</sup>	41,2 <sup>a</sup>	40,3 <sup>a</sup>	2,7	1,6	1,4	3,2	n.s.	**	n.s.
♂	42,6 <sup>a</sup>	41,6 <sup>a</sup>	42,0 <sup>a</sup>	42,4 <sup>a</sup>	2,4	1,0	0,7	2,6			
♀	39,4 <sup>a</sup>	39,4 <sup>a</sup>	40,5 <sup>a</sup>	38,2 <sup>a</sup>	1,8	1,2	1,5	2,3			
Tägl. Zunahmen g	347 <sup>a</sup>	310 <sup>b</sup>	261 <sup>c</sup>	209 <sup>d</sup>	88,8	53,1	43,1	41,4	**	**	n.s.
♂	398 <sup>a</sup>	335 <sup>b</sup>	294 <sup>c</sup>	229 <sup>bc</sup>	93,8	61,1	37,0	44,1			
♀	296 <sup>a</sup>	286 <sup>ab</sup>	229 <sup>bc</sup>	188 <sup>c</sup>	49,9	32,9	11,1	29,2			
Mastdauer d	53,9 <sup>a</sup>	60,9 <sup>a</sup>	72,8 <sup>b</sup>	83,3 <sup>b</sup>	9,9	14,0	8,4	12,9	**	n.s.	n.s.
♂	50,4 <sup>a</sup>	60,2 <sup>ab</sup>	67,2 <sup>b</sup>	84,0 <sup>c</sup>	10,4	17,6	11,7	8,6			
♀	57,4 <sup>a</sup>	61,6 <sup>a</sup>	78,4 <sup>b</sup>	82,6 <sup>b</sup>	9,1	11,5	12,5	9,1			

Die Fütterung von Proteinträgern mit niedriger Abbaubarkeit (MK und KP) führte zu einer signifikant kürzeren Mastdauer mit im Mittel 53,9 und 60,9 Tagen im Vergleich zu Proteinträgern mit hoher Protein- bzw. N-Abbaubarkeit, die 18,9 bis 29,4 Tage länger bis zum Erreichen des Mastendgewichts gemästet werden mussten. Innerhalb der Geschlechter zeigten weibliche Tiere in Bezug auf den Einfluss der Futtermischung dasselbe Signifikanzmuster wie die

Gesamtgruppe. Bei den Bocklämmern betrug die längste Mastdauer 84,0 Tage, was einen signifikanten Unterschied der Ration HA gegenüber allen anderen Rationen bedeutete.

Bei keinem Ergebnis der Mastleistung konnte eine signifikante Wechselwirkung zwischen Futterration und Geschlecht festgestellt werden.

### 4.3.3 Futteraufnahme und Futterverwertung

Die Futteraufnahme der Gruppen MK, KP und AB war mit durchschnittlich 1,24 bis 1,29 kg TS pro Tier und Tag gut vergleichbar, die Gruppe HA fiel mit im Mittel 1,10 kg TS pro Lamm und Tag gegenüber den anderen Gruppen etwas ab. Bei Differenzierung in Heu- und Kraftfutteraufnahme lagen die Lämmer aller vier Rationen in der Heuaufnahme mit 0,28 bis 0,29 kg TS pro Tag weitgehend gleichauf. Dagegen erreichten die mit dem Kraftfutter der Ration HA gefütterten Lämmer mit 0,82 kg nicht ganz das Niveau der anderen Gruppen von 0,96 bis 1,01 kg TS pro Tag.

Entsprechend der in den Tabellen 44 und 45 aufgeführten Mastdauer und der Futteraufnahme ergaben sich für die einzelnen Fütterungsgruppen deutliche Unterschiede in den verbrauchten Heu- und Kraftfuttermengen. Bei Proteinträgern mit niedriger Proteinabbaubarkeit wurden gemäß der kürzeren Mastdauer pro Lamm 54,4 kg Kraftfutter und 15 kg Heu bei Ration MK und 60,7 kg Kraftfutter und 17,3 kg Heu bei Ration KP kg aufgewendet. Bei den Rationen mit Proteinträgern hoher Abbaubarkeit führte die längere Mastdauer zu einer Steigerung der verbrauchten Kraftfuttermenge um neun bis 15 kg pro Lamm, während sich der Heuverzehr um zwei bis sieben kg erhöhte.

Tabelle 45: Parameter der Futteraufnahme und Futterverwertung

Ration	MK	KP	AB	HA
RDN in %	64	60	81	85
AS-Qualität UDP	schlecht	gut	gut	schlecht
Futteraufnahme kg TS/d/Lamm*	1,29	1,28	1,24	1,10
Kraftfutteraufnahme kg TS/d/Lamm*	1,01	1,00	0,96	0,82
Heuaufnahme kg TS/d/Lamm*	0,28	0,28	0,29	0,28
Gesamt Kraftfuttermenge pro Lamm kg TS*	54,4	60,7	69,7	68,3
Gesamt Heuverbrauch pro Lamm kg TS*	15,0	17,3	20,8	23,0
Gesamt-Futtermenge pro Lamm kg TS*	69,4	78,0	90,5	91,3
Futterverwertung (Futtermenge/Lebendmassezunahme) *	3,85	4,23	4,85	5,30
Kraftfuttermengeverwertung*	3,01	3,30	3,73	3,96

\*keine statistische Auswertung möglich, da Parameter gruppenweise ermittelt

Aus den Unterschieden in Mastdauer und Futtermittelverbrauch resultierte eine Spanne in der Futtermittelverwertung von 3,85 bis 5,30 kg Futtermittelaufwand pro kg Lebendmassezuwachs.

### 4.3.4 Schlachtleistung

Das Ausschachtungsergebnis der Gruppen bewegte sich in einem engen Rahmen von 48,3 bis 49,9 %. Weder bei der Ausschachtung der Gesamtgruppe noch innerhalb der männlichen Lämmer konnten signifikante Unterschiede beobachtet werden. Dagegen unterschied sich innerhalb der weiblichen Lämmer die Ration HA mit 48,1 % signifikant von den Rationen MK mit 51,6 % und AB mit 51,1 %. Insgesamt wiesen die weiblichen Tiere mit 50,5 % eine signifikant höhere Ausschachtung als die Bocklämmer mit 48,0 % auf.

Die Versuchsgruppen zeigten ein einheitliches durchschnittliches Niveau in der Rückenlänge von 38,6 bis 40,3 cm ohne signifikante Unterschiede durch die Faktoren Futterration, Geschlecht oder deren Wechselwirkung.

Auf die mittlere Kotelettfläche der Gruppen mit 13,3 bis 14,9 cm<sup>2</sup>, sowie innerhalb der Bocklämmer mit 13,5 bis 14,9 cm<sup>2</sup>, übte die Futterration keine signifikanten Unterschiede aus, während sich innerhalb der weiblichen Lämmer die Gruppe HA mit 12,9 cm<sup>2</sup> zu MK und AB mit 15,3 bzw. 16,2 cm<sup>2</sup> signifikant absetzte. Zwischen Geschlecht und Futterration bestand für den Parameter Kotelettfläche eine signifikante Wechselwirkung.

Die Fleischigkeit der Schlachtkörper erreichte über alle Futterrationen und Geschlechter hinweg im Mittel 2,8 bis 3,2, was in der Handelsklasseneinteilung nach dem EUROP-System einem R entspricht. Diese enge Spanne ergab keine Signifikanzen in der Fleischigkeit hinsichtlich Fütterung oder Geschlechtszugehörigkeit sowie deren Wechselwirkung.

Bei der Einstufung der Schlachtkörper in Fettklassen traten tendenziell, jedoch nicht statistisch absicherbar, Unterschiede im Grad der Verfettung in Abhängigkeit von der Futterration und dem Geschlecht auf. So führten Rationen mit Proteinträgern niedriger Abbaubarkeit zu einer Verfettung der Klasse 2, wohingegen Rationen mit hoher Proteinabbaubarkeit bereits in Klasse 3 eingeordnet wurden. Zusätzlich schnitten die Rationen mit Proteinträgern guter AS-Zusammensetzung mit 2,2 bei KP und 2,7 bei AB besser ab im Vergleich zu 2,4 bei MK und 2,8 bei HA. Dieser Trend bestätigte sich ebenfalls innerhalb der Geschlechter mit Ausnahme der Fütterung von schnell abbaubaren Proteinträgern an weibliche Lämmer, die unabhängig von der AS-Qualität mit 2,8 numerisch dieselbe Verfettung aufwiesen. Generell war die Verfettung über alle Rationstypen hinweg bei weiblichen Lämmern mit im Mittel 2,65 graduell stärker ausgeprägt als bei Bocklämmern mit 2,40.

## Kapitel 4

Die Masse des die Nieren umgebenden Fettgewebes nahm kontinuierlich mit steigender Abbaubarkeit des Proteinträgers von 215 g bei MK über 232 g bei KP auf 269 g bei AB zu, worauf ein leichter Abfall auf 262 g bei HA folgte. Diese numerischen Unterschiede konnten statistisch jedoch nicht belegt werden. Innerhalb der Geschlechter folgte die Verteilung des Nierenfettes demselben Muster wie bei der Gesamtgruppe. Insgesamt zeichneten sich weibliche Lämmer durch eine mit 266 g höhere Nierenfettmenge aus als männliche Tiere mit 223 g, wobei das Signifikanzniveau mit  $p = 0,076$  nur knapp unterschritten wurde.

Tabelle 46: Parameter der Schlachtleistung

Ration	MK	KP	AB	HA	SD <sub>MK</sub>	SD <sub>KP</sub>	SD <sub>AB</sub>	SD <sub>HA</sub>	Ration	Geschl.	R x G
RDN in %	64	60	81	85						P<0,05	
AS-Qualität UDP	schlecht	gut	gut	schlecht							
Ausschlachtung %	49,9 <sup>a</sup>	49,4 <sup>a</sup>	49,4 <sup>a</sup>	48,3 <sup>a</sup>	2,6	2,2	2,5	1,5	n.s.	**	n.s.
♂	48,2 <sup>a</sup>	48,1 <sup>a</sup>	47,7 <sup>a</sup>	48,0 <sup>a</sup>	1,8	1,9	0,6	1,2			
♀	51,6 <sup>a</sup>	50,7 <sup>ab</sup>	51,1 <sup>a</sup>	48,1 <sup>b</sup>	2,0	1,9	2,4	1,9			
Rückenlänge cm	38,7 <sup>a</sup>	38,8 <sup>a</sup>	39,8 <sup>a</sup>	39,6 <sup>a</sup>	0,8	1,5	1,9	1,3	n.s.	n.s.	n.s.
♂	38,7 <sup>a</sup>	38,6 <sup>a</sup>	40,1 <sup>a</sup>	40,3 <sup>a</sup>	0,9	1,9	2,6	1,3			
♀	38,6 <sup>a</sup>	38,9 <sup>a</sup>	39,6 <sup>a</sup>	38,8 <sup>a</sup>	0,8	1,2	0,9	0,6			
Kotelettfäche cm <sup>2</sup>	14,9 <sup>a</sup>	13,3 <sup>a</sup>	14,9 <sup>a</sup>	13,9 <sup>a</sup>	1,7	1,7	2,2	2,0	n.s.	n.s.	**
♂	14,4 <sup>a</sup>	13,5 <sup>a</sup>	13,5 <sup>a</sup>	14,9 <sup>a</sup>	1,6	2,6	1,1	2,4			
♀	15,3 <sup>a</sup>	13,2 <sup>ac</sup>	16,2 <sup>ab</sup>	12,9 <sup>c</sup>	1,8	1,0	1,9	1,5			
Fleischigkeitsklasse	2,9 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	0,3	0,0	0,6	0,0	n.s.	n.s.	n.s.
♂	3,0 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	0,0	0,0	0,8	0,0			
♀	2,8 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	0,4	0,0	0,0	0,0			
Fettklasse	2,4 <sup>a</sup>	2,2 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	2,8 <sup>a</sup>	0,5	0,4	0,8	0,8	n.s.	n.s.	n.s.
♂	2,2 <sup>a</sup>	2,0 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>	2,8 <sup>a</sup>	0,4	0,0	0,9	0,8			
♀	2,6 <sup>a</sup>	2,4 <sup>a</sup>	2,8 <sup>a</sup>	2,8 <sup>a</sup>	0,5	0,5	0,8	0,8			
Nierenfett g	215 <sup>a</sup>	232 <sup>a</sup>	269 <sup>a</sup>	262 <sup>a</sup>	64	46	67	105	n.s.	n.s.	n.s.
♂	205 <sup>a</sup>	221 <sup>a</sup>	238 <sup>a</sup>	228 <sup>a</sup>	43	46	84	59			
♀	225 <sup>a</sup>	242 <sup>a</sup>	299 <sup>a</sup>	296 <sup>a</sup>	85	49	22	135			
Rückenfett cm	0,44 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,13	0,13	0,11	0,17	n.s.	**	n.s.
♂	0,43 <sup>a</sup>	0,32 <sup>ab</sup>	0,36 <sup>ab</sup>	0,24 <sup>b</sup>	0,13	0,08	0,08	0,12			
♀	0,45 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,45 <sup>a</sup>	0,49 <sup>a</sup>	0,14	0,09	0,13	0,09			

Auch die Rückenfettauflage der weiblichen Lämmer war mit im Mittel 0,48 cm signifikant höher verglichen mit den 0,34 cm bei den Bocklämmern. Entgegen gesetzt zu den Parametern Fettklasse und Nierenfettmenge nahm die Rückenfettauflage mit Steigerung des Bypassproteinanteils von HA nach MK tendenziell zu. Signifikant unterschied sich innerhalb der Bocklämmer

## Kapitel 4

die Ration HA mit 0,24 cm zur Ration MK mit 0,43 cm, während sich die Rückenfettauflage innerhalb der weiblichen Tiere uneinheitlich zeigte und keinen Einfluss der Futtermischung erkennen ließ.

### 4.3.5 Fleischqualitätsparameter des *M. longissimus dorsi*

Tabelle 47: Fleischqualitätsparameter des *M. longissimus dorsi*

Ration	MK	KP	AB	HA	SD <sub>MK</sub>	SD <sub>KP</sub>	SD <sub>AB</sub>	SD <sub>HA</sub>	Ration	Geschl.	R x G
RDN in %	64	60	81	85						P<0,05	
AS-Qualität UDP	schlecht	gut	gut	schlecht							
pH 45 min p.m.	6,68 <sup>a</sup>	6,61 <sup>a</sup>	6,60 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	0,1	0,1	0,2	0,1	n.s.	n.s.	n.s.
♂	6,64 <sup>a</sup>	6,57 <sup>a</sup>	6,61 <sup>a</sup>	6,69 <sup>a</sup>	0,1	0,1	0,2	0,1			
♀	6,72 <sup>a</sup>	6,65 <sup>a</sup>	6,59 <sup>a</sup>	6,68 <sup>a</sup>	0,1	0,1	0,3	0,1			
pH 24h p.m.	5,58 <sup>a</sup>	5,59 <sup>a</sup>	5,51 <sup>b</sup>	5,59 <sup>a</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1	**	n.s.	n.s.
♂	5,59 <sup>a</sup>	5,58 <sup>a</sup>	5,51 <sup>b</sup>	5,64 <sup>a</sup>	0,1	0,0	0,1	0,0			
♀	5,56 <sup>ab</sup>	5,59 <sup>a</sup>	5,51 <sup>b</sup>	5,53 <sup>ab</sup>	0,1	0,1	0,1	0,0			
Fleischhelligkeit	40,0 <sup>a</sup>	39,9 <sup>a</sup>	39,5 <sup>a</sup>	37,4 <sup>b</sup>	1,6	2,1	2,1	1,2	**	**	**
♂	41,1 <sup>a</sup>	40,6 <sup>a</sup>	41,1 <sup>a</sup>	36,9 <sup>b</sup>	1,0	2,9	1,0	1,4			
♀	38,9 <sup>a</sup>	39,2 <sup>a</sup>	37,9 <sup>a</sup>	37,8 <sup>a</sup>	1,3	0,8	1,6	0,9			
Rotwert	15,5 <sup>a</sup>	15,3 <sup>a</sup>	15,2 <sup>a</sup>	15,7 <sup>a</sup>	0,9	1,6	0,7	0,8	n.s.	**	**
♂	15,1 <sup>ab</sup>	14,1 <sup>a</sup>	15,0 <sup>ab</sup>	15,9 <sup>b</sup>	1,1	1,2	1,0	1,0			
♀	15,7 <sup>a</sup>	16,5 <sup>a</sup>	15,5 <sup>a</sup>	15,6 <sup>a</sup>	0,7	0,9	0,4	0,6			
Gelbwert	3,7 <sup>a</sup>	3,7 <sup>a</sup>	3,4 <sup>ab</sup>	3,1 <sup>b</sup>	0,5	0,6	0,5	0,6	**	n.s.	**
♂	4,0 <sup>a</sup>	3,3 <sup>b</sup>	3,7 <sup>ab</sup>	3,1 <sup>b</sup>	0,3	0,7	0,3	0,9			
♀	3,5 <sup>ab</sup>	4,1 <sup>a</sup>	3,1 <sup>b</sup>	3,1 <sup>b</sup>	0,5	0,4	0,4	0,4			

Im pH-Wert, gemessen an der 13. Rippe des *M. longissimus dorsi* 45 Minuten nach der Schlachtung, differierten die Fütterungsgruppen und Geschlechter mit 6,57 bis 6,72 nur wenig. Dagegen hob sich der pH-Wert der Futtermischung AB 24 h post mortem mit 5,51 signifikant von den übrigen Fütterungsgruppen mit 5,58 bzw. 5,59 ab. Innerhalb der Geschlechter zeigte das Fleisch der Ration AB ebenfalls den niedrigsten pH-Wert mit jeweils 5,51, wobei sich dieser bei den männlichen Lämmern signifikant gegenüber allen anderen Futtermischungen unterschied, während bei den weiblichen Lämmern ausschließlich zur Ration KP mit pH 5,59 ein signifikanter Unterschied vorhanden war.

Mit Anstieg des pansenbeständigen Proteins in der Futtermischung ging eine kontinuierliche Erhöhung der Fleischhelligkeit bei den Fütterungsgruppen von 37,4 bei HA über 39,5 bei AB und 39,9 bei KP auf schließlich 40,0 bei MK einher. Insbesondere die mit Harnstoff gefütterten Tiere wiesen in der Gesamtgruppe und innerhalb der Bocklämmer eine signifikant dunklere

Fleischfarbe auf, während bei den weiblichen Lämmern dieser Unterschied lediglich tendenziell ausfiel. Insgesamt betrachtet besaßen weibliche Lämmer ein signifikant dunkleres Fleisch mit im Mittel 38,4 gegenüber männlichen Lämmern mit 39,9.

Der Rotwert des *M. longissimus dorsi* lag bei allen Fütterungsgruppen mit 15,2 bis 15,7 dicht zusammen, die verwendeten Futterrationen wirkten sich nicht signifikant auf die Fütterungsgruppen aus mit Ausnahme der Ration KP mit 14,1 gegenüber HA mit 15,9 bei den Bocklämmern. Bei Differenzierung nach Geschlechtern wies das Fleisch der weiblichen Lämmer mit 15,8 eine signifikant höhere Rotfärbung im Vergleich zu den männlichen Lämmern mit 15,0 auf. Im Gegensatz zum Rotwert kam dem Geschlecht beim Gelbwert kein signifikanter Einfluss zu. Dagegen verursachte die Futterrationsration signifikante Unterschiede in Form einer Zunahme der Intensität der Farbsättigung in der Gesamtgruppe von einem Gelbwert von 3,1 bei HA bis hin zu 3,7 bei Rationen mit niedriger Proteinabbaubarkeit. Noch höher fiel der Anstieg innerhalb der Geschlechter von 3,1 bei HA auf 4,0 (MK) bei den männlichen Lämmern und 4,1 (KP) bei den weiblichen Lämmern aus. Bei allen Parametern der Fleischfarbe bestand eine signifikante Wechselwirkung zwischen Futterrationsration und Geschlecht.

### **4.3.6 Nährstoffzusammensetzung des *M. longissimus dorsi***

Der TS-Gehalt des Muskelfleisches betrug im Mittel der Versuchsgruppen 24,1 bis 24,8 %. Bei den weiblichen Lämmern wurde mit 25,0 % ein signifikant höherer TS-Gehalt im Vergleich zu den Bocklämmern mit 23,9 % beobachtet, während weder in der Gesamtgruppe noch innerhalb der Geschlechter ein Einfluss der Futterrationsration auf die TS zu erkennen war.

Der XP-Gehalt des *M. longissimus dorsi* bewegte sich zwischen den Fütterungsgruppen auf Basis der Originalsubstanz (OS) mit 20,2 bis 20,3 % und bezogen auf TS mit 82,0 bis 83,9 % auf einem einheitlichen Niveau ohne signifikante Fütterungseinflüsse. Auch bei diesem Parameter differierten die weiblichen Lämmer mit 81,7 % XP in der TS signifikant von den Bocklämmern mit 84,3 %.

In der OS wiesen die Fütterungsgruppen mit langsam abbaubaren Proteinträgern tendenziell niedrigere intramuskuläre Fettgehalte mit 2,6 % als die Fütterungsgruppen mit schnell abbaubaren (2,7 bzw. 3,0 %). In der TS zeigte sich der intramuskuläre Fettgehalt des *M. longissimus dorsi* numerisch am höchsten mit 12,1 % XL in der Ration AB, während die übrigen Rationen mit 10,7 bis 10,9 % fast gleichauf lagen. Innerhalb der männlichen Tiere traten stärkere Schwankungen mit 2,0 bis 2,9 % XL in der OS bzw. 8,6 bis 11,6 % XL in der TS auf als bei den weiblichen Lämmern mit 2,7 bis 3,2 % in der OS bzw. 11,8 bis 12,8 %, jedoch ohne signifikante Unterschiede bezogen auf die Fütterung. Demgegenüber war ein signifikanter Einfluss des

## Kapitel 4

Geschlechtes mit 2,4 % in der OS bzw. 10,1 % XL in der TS bei den männlichen Tieren im Vergleich zu 3,0 % in der OS und 12,2 % XL in der TS bei den weiblichen Lämmern zu beobachten.

Tabelle 48: Nährstoffzusammensetzung des *M. longissimus dorsi*

Ration	MK	KP	AB	HA	SD <sub>MK</sub>	SD <sub>KP</sub>	SD <sub>AB</sub>	SD <sub>HA</sub>	Ration	Geschl.	R x G
RDN in %	64	60	81	85						P<0,05	
AS-Qualität UDP	schlecht	gut	gut	schlecht							
TS %	24,6 <sup>a</sup>	24,1 <sup>a</sup>	24,8 <sup>a</sup>	24,2 <sup>a</sup>	1,1	1,0	1,1	1,2	n.s.	**	n.s.
♂	23,7 <sup>a</sup>	23,7 <sup>a</sup>	24,6 <sup>a</sup>	23,7 <sup>a</sup>	0,8	0,6	1,2	1,0			
♀	25,4 <sup>a</sup>	24,6 <sup>a</sup>	25,0 <sup>a</sup>	24,8 <sup>a</sup>	0,7	1,2	1,1	1,1			
XP % OS	20,2 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	20,3 <sup>a</sup>	20,3 <sup>a</sup>	0,2	0,4	0,3	0,3	n.s.	n.s.	n.s.
♂	20,0 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	0,3	0,3	0,7	0,7			
♀	20,5 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	20,3 <sup>a</sup>	20,5 <sup>a</sup>	0,5	1,1	0,3	0,4			
XP % TS	82,5 <sup>a</sup>	83,7 <sup>a</sup>	82,0 <sup>a</sup>	83,9 <sup>a</sup>	3,1	3,1	3,6	2,5	n.s.	**	n.s.
♂	84,1 <sup>a</sup>	85,5 <sup>a</sup>	82,4 <sup>a</sup>	85,3 <sup>a</sup>	2,2	2,7	3,7	1,8			
♀	80,8 <sup>a</sup>	81,9 <sup>a</sup>	81,7 <sup>a</sup>	82,5 <sup>a</sup>	3,1	2,5	3,9	2,4			
XL % OS	2,6 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	0,7	0,8	0,9	0,7	n.s.	**	n.s.
♂	2,4 <sup>a</sup>	2,0 <sup>a</sup>	2,9 <sup>a</sup>	2,4 <sup>a</sup>	0,5	0,6	0,8	0,6			
♀	2,7 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	0,8	0,5	1,0	0,8			
XL % TS	10,8 <sup>a</sup>	10,7 <sup>a</sup>	12,1 <sup>a</sup>	10,9 <sup>a</sup>	2,6	3,1	3,1	2,5	n.s.	**	n.s.
♂	10,1 <sup>a</sup>	8,6 <sup>a</sup>	11,6 <sup>a</sup>	9,9 <sup>a</sup>	2,0	2,5	3,0	2,2			
♀	11,5 <sup>a</sup>	12,8 <sup>a</sup>	12,6 <sup>a</sup>	11,8 <sup>a</sup>	3,2	2,0	3,4	2,5			

### 4.4 Diskussion

Im vorliegenden Versuch führte ein XP-Gehalt von 14,9-15,3 % in der TS zu ansprechenden täglichen Zunahmen von bis zu 398 g. Auch RINGDORFER (1997) konnte bei einem KF:GF-Verhältnis von 80: 20 bei einer Erhöhung des XP-Gehaltes über 15 % keine weitere Erhöhung der täglichen Zunahmen verzeichnen, stattdessen war sogar ein leichter Abfall zu erkennen.

Eine Erhöhung des UDP-Anteils in den Rationen führte im Versuch zu einer signifikanten Steigerung der täglichen Zunahmen, verbunden mit einer signifikanten Verkürzung der Mastdauer. Dies ist umso bemerkenswerter, da mit isonitrogenen und isoenergetischen Rationen gearbeitet wurde und allein die Variation der Abbaubarkeit der Proteinträger einen Unterschied von knapp einem Monat Mastdauer zwischen der besten und schlechtesten Gruppe zur Folge hatte. Dementsprechend günstiger fiel auch die Futtermittelverwertung bei den Rationen mit hohem UDP-Gehalt aus.

Auch HADDAD ET AL. (2005) und BELLOF ET AL. (2006) erzielten positive Ergebnisse bei der Supplementierung von Proteinträgern mit einem hohen UDP-Niveau. So fütterten HADDAD ET AL. (2005) Awassi-Lämmern im Gewichtsabschnitt von 17-33 kg isoenergetische (9,7 MJ ME) und isonitrogene Rationen (16,1 %) auf drei unterschiedlichen UDP-Niveaus. Bei einem einheitlichen Futteraufnahmelevel erreichten die Gruppen mit einem mittleren und hohen UDP-Niveau signifikant höhere tägliche Zunahmen gegenüber der niedrigen UDP-Gruppe. Die Futtermittelverwertung war ebenfalls signifikant verbessert gegenüber den erstgenannten Varianten. Bei BELLOF ET AL. (2006) führte der Einsatz von Proteinträgern mit höherem Bypass zu signifikant höheren täglichen Zunahmen. Auch die Studie von SALISBURY ET AL. (2004) stellte bei mit Grundfutter niedriger Qualität gefütterten Lämmern durch UDP-Supplementierung eine Steigerung des N- und AS-Flusses zum Duodenum fest. Daneben zeigten weitere Arbeiten bei Lämmern und Kälbern sowohl ein verbessertes Wachstum (STOCK ET AL., 1981; SINDT ET AL., 1994; ZINN UND OWENS, 1993) als auch eine verbesserte Futtermittelverwertung (ORSKOV ET AL., 1974; HENNESSY UND WILLIAMSON, 1990).

Auch MANSO ET AL. (1998) untersuchten bei Merinobocklammern den Einsatz der Proteinsupplemente Sojaextraktionsschrot und Fleischmehl zu einer Basalration aus Gerste. In der genannten Untersuchung übte die Proteinquelle jedoch keinen Einfluss auf die tierische Leistung hinsichtlich täglicher Zunahmen und Futtermittelverwertung aus. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass die Unterschiede im UDP-Gehalt zwischen den Rationen mit 51 g/kg bei Sojaextraktionsschrot und 64 g/kg bei Fleischmehl moderat waren. Auch POND (1984) und

## Kapitel 4

---

HUSSEIN UND JORDAN (1991) konnten keine Verbesserung in den täglichen Zunahmen bei Einsatz von Bypassproteinquellen erzielen.

Entsprechend den Versuchsergebnissen wiesen bei einer Studie von BELLOF ET AL. (2003A) männliche Tiere sowohl eine kürzere Mastdauer als auch signifikant höhere tägliche Zunahmen von 43 g auf. In letztgenannter Studie lag der Futtermittelverbrauch je kg Lebendmassezunahme bei einem Mastendgewicht von 45 kg bei 4,26 kg und damit in der Mitte von 3,85 bis 5,30 kg, wie im vorliegenden Versuch erhalten. Bei einem Kraftfutteranteil von 80 % der Ration erreichte RINGDORFER (1997) mit 3,77 kg Futteraufwand je kg Lebendmassezunahme ein ähnliches Ergebnis wie die beste Gruppe des vorliegenden Versuches.

Auffallend ist die in vielen Studien verabreichte marginale tägliche Heurration der Lämmer von beispielsweise maximal 100-200 g Heu je Tag, welche mit einer begrenzten Heuaufnahmebereitschaft seitens der Lämmer begründet werden. So betrug in einer Studie von BELLOF ET AL. (2003A) die Heuaufnahme bei hoher Fütterungsintensität und angestrebten täglichen Zunahmen von 340 g pro Tier und Tag 180 bis 200 g. Bei mittlerer Fütterungsintensität wurden 280 g tägliche Zunahmen angestrebt mit einer Heuaufnahme von 300 bis 500 g pro Tier und Tag. Jedoch wurde in keiner Gruppe die zugeteilte Heumenge vollständig abgerufen, so betrug die Heuaufnahme bei hoher Fütterungsintensität 143 g, bei mittlerer 234 g. Bezogen auf eine Mastperiode von 18 kg LM bis zu einem Mastendgewicht von 45 kg bedeutete dies eine tägliche Heuaufnahme von 245 g in der OS. Im vorliegenden Versuch wurden mit 280 bis 290 g Heu in der TM bzw. 320 bis 330 g Heu in der OS deutlich höhere Heumengen gefressen, bei nahezu identischer KF-Aufnahme von im Mittel 1060 g/d. Daraus resultierte eine insgesamt höhere Futteraufnahme von 1100 bis 1290 g/d gegenüber BELLOF ET AL. (2003A) die 1048g/d ermittelten. Jedoch ist das im Versuch erzielte Niveau gut vergleichbar mit RINGDORFER (1997), der bei einem 80 % igen KF-Anteil in der Ration 1210 g TM-Aufnahme ermittelte, wobei auch hier die Grundfutteraufnahme mit 233 g ein niedrigeres Niveau als im vorliegenden Versuch besaß.

Lämmer aus Intensivmast erreichen in einem Lebensalter von etwa 135 Tagen eine gute Schlachtkörperqualität. Hervorzuheben ist in diesem Alter nach GÖHLER (1978) eine günstige Kombination von hohen täglichen Zunahmen, guter Futtermittelverwertung und Schlachtkörperqualität. Das Schlachtagter der Lämmer im vorliegenden Versuch differierte zwischen 115 und 144 Tagen, womit von der Gruppe HA das von GÖHLER (1978) beschriebene Optimum überschritten wurde.

## Kapitel 4

---

Die Proteinabbaubarkeit der Ration beeinflusste keines der Schlachtkörpermerkmale signifikant, was in ähnlichen Versuchsanstellungen von MANSO ET AL. (1998) und Bellof et al. (2006) bestätigt wird. Auch die Aminosäurezusammensetzung der Ration führte zu keinen signifikanten Effekten auf die einzelnen Schlachtkörpermerkmale.

Die im Versuch erreichte Ausschachtung liegt mit 48,3 bis 49,4 % in der von SÜSS UND V. LENGERKEN (1998) bei einer Lebendmasse von 35-45 kg in Abhängigkeit von Fütterungsintensität und Rasse angegebenen Spanne von 44 bis 53 %. Um den Effekt der Rasse zu eliminieren sind in Tabelle 49 die Ergebnisse der Leistungsprüfung von Bocklämmern der Rasse Merino aus verschiedenen Jahrgängen in Bayern dargestellt. Stellt man die im vorliegenden Versuch erzielte Ausschachtung von 47,7 bis 48,2 % bei den Bocklämmern in Beziehung zu den leistungsgeprüften Bocklämmern, so ergeben sich sehr gute Übereinstimmungen.

Tabelle 49: Ergebnisse der Schlachtleistung von Merinolandschafböcken der Prüfstation Grub

	2007/2008 MENDEL ET AL. (2009)	2005/2006 LfL (2006)
Ausschlachtung (%)	47,8	48,3
Becken/Nierenfett (g)	248	264
Rückenlänge (cm)	39,4	39,9
Rückenmuskel (cm <sup>2</sup> )	15,2	14,5

Nach SCHLOLAUT ET AL. (1974) und RINGDORFER (1997) ist mit zunehmender Kraftfutterintensität zu Lasten der Heuzuteilung mit einer höheren Ausschachtung zu rechnen. Auch im vorliegenden Versuch zeigte sich bei einem Kraftfutteranteil von 74 % an der Gesamtration in der Gruppe HA eine um 1-1,5 % geringere Ausschachtung im Vergleich zu den übrigen Gruppen mit Kraftfutteranteilen von 77-78 %.

Im Versuch zeichneten sich weibliche Lämmer mit 48,1 bis 51,6 % durch eine signifikant höhere Ausschachtung aus. Diese gründet sich nach SÜSS UND V. LENGERKEN (1998), bei einer Lebendmasse von über 30 kg, auf den höheren Fettansatz von weiblichen Lämmern gegenüber Bocklämmern.

Weder Futtermenge noch Geschlecht besaßen im Versuch einen signifikanten Einfluss auf die Rückenlänge und die Kotelettfläche. Die Versuchsdaten der Bocklämmer für den Parameter Rückenlänge nahmen mit 38,7-40,3 eine höhere Spannbreite gegenüber den Bocklämmern aus der Prüfstation mit 39,4-39,9 cm ein. Während die Kotelett- bzw. Rückenmuskelfläche der Versuchsgruppen MK und HA mit 14,4 bzw. 14,9 cm<sup>2</sup> gut mit den Werten der Prüfstation

## Kapitel 4

---

harmonierten, erreichten die Gruppen KP und AB mit jeweils 13,5 cm<sup>2</sup> nicht einmal den aus dem Jahre 2001 stammenden Mittelwert von Merinolandschafbocklämmern von 14,1 cm<sup>2</sup> (NADERER ET AL., 2001).

Auch Fleischigkeits- und Fettklassen des Schlachtkörpers wiesen keine rations- oder geschlechtsbedingten signifikanten Einflüsse auf. Jedoch konnte eine gewisse Tendenz in Form einer erhöhten Verfettung der Lämmer mit zunehmender Abbaubarkeit des Proteinträgers beobachtet werden, wovon sowohl die Fettklasse (2,2 bis 2,7) als auch die Nierenfettmenge (215 bis 269) betroffen waren.

Dieses Ergebnis ist vermutlich wiederum indirekt der Abbaubarkeit der N-Quellen zuzuschreiben, da diese durch unterschiedliche tägliche Zunahmen die Mastdauer zwischen den Fütterungsgruppen signifikant beeinflusste. Entgegen älteren Untersuchungen von KIRTON ET AL. (1981) und KEMPSTER ET AL. (1987) war ein rasches Wachstum nicht mit einer ausgeprägteren Verfettung im Vergleich zu langsam wachsenden Lämmern verbunden.

Dagegen konnte im Versuch ein gegenläufiger Trend in der Rückenfettauflage mit zunehmender Abbaubarkeit der Proteinträger von 0,44 bis zu 0,36 mm festgestellt werden.

Weibliche Lämmer besaßen eine signifikant höhere Rückenfettauflage mit im Mittel 0,48 gegenüber 0,34 mm bei den Bocklämmern. Dies beruht auf dem ab einem Alter von 75 Tagen bzw. 30 kg LM einsetzenden Sexualdimorphismus der Lämmer, so dass ab diesem Zeitpunkt der Fettansatz einschließlich Nierenfettmenge und subkutaner Fettauflage bei weiblichen Tieren entsprechend höher ausfällt (GÖHLER, 1978; HERDTLE, 1986; BELLOF ET AL., 2003B; KREMER ET AL., 2004). Die im Versuch knapp verfehlte Signifikanz der Nierenfettmenge von 266 g bei weiblichen Tieren im Vergleich zu 223 g bei männlichen Lämmern dürfte auch auf das mit 39 kg LM deutlich niedrigere Schlachtgewicht bei den weiblichen Lämmern zurückzuführen sein und so der Sexualdimorphismus noch keine dominante Rolle spielte.

Der *M. longissimus dorsi* wird nach SAÑUDO ET AL. (2007) am häufigsten für die Untersuchung von Parametern der Fleischqualität verwendet und korreliert bei den Merkmalen pH-Wert und Fleischhelligkeit gut mit anderen Muskeln des Schlachtkörpers (SCHIEFER UND SCHARNER, 1977). Aus diesem Grund wurde auch im vorliegenden Versuch der *M. longissimus dorsi* zur Beurteilung der Fleischqualität herangezogen.

Fleischqualitätsmängel, welche auf einen zu niedrigen pH-Wert 45 Minuten post mortem von < 5,8 (PSE-Fleisch) oder auf einen zu hohen pH-Wert 24 h post mortem von > 6,0 (DFD-Fleisch) zurückzuführen sind (LÖFFLER, 1994), treten beim Schaf vergleichsweise selten auf

(QUANZ, 1990). Der Verlauf des pH-Wertes nach der Schlachtung beeinflusst jedoch Farbe, Saftigkeit und Geschmack sowie Wasserhaltekapazität und Haltbarkeit des Fleisches (SAÑUDO ET AL., 2007), so dass diesem Parameter auch beim Lamm Aufmerksamkeit geschenkt werden sollte.

Im vorliegenden Versuch konnten keine Auswirkungen der Futtermittelration bzw. der unterschiedlichen ruminalen Abbaubarkeit der verwendeten Proteinträger und ihrer Aminosäurezusammensetzung auf den pH-Wert 45 Minuten post mortem festgestellt werden. Vergleichbare Studien zum Einfluss der Abbaubarkeit von Proteinträgern auf diesen Untersuchungsparameter sind nicht bekannt. Unterschiedliche Kraftfuttermittelgaben in Form von Gerste oder einer handelsüblichen Mischung bei abgesetzten auf der Weide gehaltenen Lämmern besaßen in der Untersuchung von VELASCO ET AL. (2004) keinen Einfluss auf den pH-Wert des *M. semitendinosus* 45 Minuten nach der Schlachtung.

Aufgrund des bereits angeführten geringfügigen Auftretens von pH-bedingten Fleischqualitätsmängeln existieren für Lammfleisch keine gesetzlichen Mindest- bzw. Höchstgehalte für den pH-Wert. Legt man die Klassifizierung von Mastlämmern nach SCHIEFER UND SCHARNER (1977) zugrunde, lag der pH-Wert für 24 h post mortem bei allen Versuchsgruppen im Bereich „gut“. Auch die im Rahmen des Qualitätsfleischprogramms „Geprüfte Qualität“ des Bundeslandes Bayern geltende Obergrenze von 6,0 für den pH-Wert 24 h post mortem für DFD-Fleisch wurde im vorliegenden Versuch nicht überschritten.

Einen signifikant niedrigeren pH-Wert 24 h post mortem von 5,51 wiesen mit der Ration AB gefütterte Lämmer gegenüber allen anderen Versuchsgruppen (5,58-5,59) auf. Diese Beobachtung ist möglicherweise auf Unterschiede in der von den Lämmern aufgenommenen Stärkemenge bzw. Stärkequalität zurückzuführen. Ausgehend von mittleren Stärkegehalten nach INRA (2004) würde der Stärkegehalt der Kraftfuttermischungen MK, KP, AB und HA 43,5, 43,0, 45,8 und 45,5 % je kg TS betragen. Bezieht man nun die Kraftfuturaufnahme der Lämmer über die Mastperiode mit ein, würde sich eine tägliche Stärkeaufnahme von 439 g bei MK, 430 g bei KP, 440 g bei AB und 382 g bei HA ergeben. Während die effektive Abbaubarkeit der Stärke von Ackerbohnen nach OFFNER ET AL. (2003) bei einer Passagerate von 4 %/h im Mittel 78,6 % beträgt und damit zu 21,4 % resistent gegenüber einem Abbau im Pansen ist, liegt die ruminale Stärkebeständigkeit von Gerste lediglich bei 6,3 %. Die Ration AB wies im Vergleich zu den übrigen Rationen den geringsten Anteil Gerste (44,6 %) auf. Gleichzeitig beinhaltete die Ration AB die höchsten Anteile des Proteinträgers (25,4 %) gegenüber den anderen Rationen, womit in höherem Maße ein Austausch von Gersten- gegenüber Ackerbohnenstärke in der Ration AB gegeben war. Aufgrund der höheren Mengen beständiger Stärke in der Ration AB könnte die

Glucoseversorgung verbessert und damit größere Glykogenreserven vorhanden gewesen sein, die nach PRÄNDL (1988) einen niedrigeren pH-Wert 24 h nach der Schlachtung verursachen, was den signifikant niedrigeren pH-Wert der Gruppe AB im vorliegenden Versuch erklären würde. Diese These wird zusätzlich unterstützt durch die tendenziell hohe Verfettung der Lämmer der Ration AB mit einer Fettklasse von 2,7 und der numerisch höchsten Nierenfettmenge von 268 g innerhalb aller Versuchsrationen.

Ein weiterer Erklärungsansatz für den signifikant niedrigeren pH-Wert der Gruppe AB könnten auch Unterschiede in der Kühlung des Fleisches nach der Schlachtung sein (SCHWÄGELE, 1992). Auffällig ist, dass fünf der Tiere der Gruppe AB an einem Tag geschlachtet wurden sowie ein weiteres Tier der Gruppe HA. Dabei wiesen vier der angeführten Lämmer pH-24 h Werte von 5,43 bis 5,49 auf. Da jedoch über Abweichungen im Kühlprozess der Schlachtlämmer an diesem Tag keine Angaben vorliegen, kann diese These nicht belegt werden.

Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten im durchgeführten Versuch weder beim pH-Wert 45 Minuten noch 24 h post mortem festgestellt werden. Dieses Ergebnis stimmt mit den Untersuchungen von VELASCO ET AL. (2000) und TEIXEIRA ET AL. (2005) überein, die ebenfalls keinen Einfluss des Geschlechtes auf den pH-Wert 24 h post mortem beobachteten. Dagegen berichten FOGARTY ET AL. (2002) von einem tendenziell höheren pH-Wert 1 h post mortem bei Bocklämmern.

Das Qualitätsmerkmal Fleischfarbe ist im System der Internationalen Energiekommission (CIE, 1986) der Farberfassung des menschlichen Auges nachempfunden. Als Kriterien der Fleischfarbe werden die Fleischhelligkeit ( $L^*$ ), die (Rot)-Färbung (Rotwert ( $a^*$ )) und die Farbsättigung (Gelbwert  $b^*$ ) herangezogen. FREUDENREICH (1993) konstatiert bei Lammfleisch üblicherweise nur geringe Schwankungen bei den Merkmalen der Fleischfarbe im Kotelett. So liegen die Werte für Helligkeit zwischen 37 und 50, für Rotfärbung zwischen 11 und 18 und für Gelbfärbung im Bereich von 6 bis 14.

Die Präferenzen des Verbrauchers in Punkto Fleischhelligkeit differieren. In den Mittelmeerlandern wird bevorzugt helleres Fleisch konsumiert ( $L^* > 40$ ), da die Helligkeit mit der Herkunft des Fleisches von jungen Tieren in Verbindung gebracht wird (SAÑUDO ET AL., 2007). In nördlicheren Ländern liegt die Untergrenze der Verbraucherakzeptanz im Merkmal Fleischhelligkeit bei einem  $L^*$ -Wert von 34 (HOPKINS, 1996). Dieser Minimalwert wurde im vorliegenden Versuch bei allen Gruppenmittelwerten sowie den nach Geschlechtern getrennten Mittelwerten mit einer Spanne von 36,9 bis 41,1 überschritten.

Zwischen der Ration HA und den anderen Rationen bestand ein signifikanter Unterschied im Parameter der Fleischhelligkeit mit signifikant dunklerem Fleisch bei Lämmern der Gruppe HA mit einem mittleren L-Wert von 37,7. Dieser Sachverhalt steht vermutlich indirekt in Zusammenhang mit XP-Abbaubarkeit der Versuchsrationen. Denn nach SAÑUDO ET AL. (2007) ist die Fleischfarbe abhängig vom Alter bei der Schlachtung, von Schlachtgewicht und Geschlecht sowie der Rasse; außerdem beeinflussen der 24 h-pH-Wert des Fleisches, die Geschwindigkeit des pH-Abfalls post mortem, der intramuskuläre Fettgehalt sowie die Sauerstoffaufnahme die Farbhelligkeit.

Da das Schlachtgewicht sowie die Rasse im vorliegenden Versuch identisch waren, scheidet ein Einfluss dieser Faktoren aus. Nach LEDWARD ET AL. (1986) tendiert ein höherer pH-Wert 24 h post mortem zu einer dunkleren Fleischfarbe. Im Versuch war der pH-Wert der Gruppe HA mit 5,59 jedoch gleichauf mit der Gruppe KP und nur um 0,01 höher als bei der Gruppe MK, wobei die letztgenannten beiden Fütterungsgruppen eine deutlich hellere Fleischfarbe von 39,9-40,0 aufwiesen. Aus diesem Grunde scheint auch der pH-Wert nicht entscheidend gewesen zu sein. Ebenfalls ohne Einfluss dürfte der intramuskuläre Fettgehalt des Fleisches gewesen sein, da auch hier keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen bestanden. Da die Mastdauer der Tiere der Gruppe HA im vorliegenden Versuch 11 bis 29 Tage länger dauerte, resultiert daraus ein höheres Alter der Lämmer, welches für das signifikant dunklere Fleisch im vorliegenden Versuch verantwortlich sein dürfte. Denn nach HONIKEL (1998) wird mit zunehmendem Alter die Fleischfarbe dunkler. Bestätigt wird das vorliegende Versuchsergebnis durch eine Studie von WIESE ET AL. (2003) die neben Lupinen Harnstoff und Rapsexpeller als N-Quelle für ihre isonitrogenen (14,4 % XP) und isoenergetischen Rationen (10,5 MJ ME/kg TM) verwendeten. Bei diesen Autoren führte Harnstoff als N-Quelle ebenfalls zu signifikant niedrigeren täglichen Zunahmen gegenüber einer N-Quelle geringerer ruminaler Abbaubarkeit, wie in diesem Fall Rapsexpeller, was wiederum ein höheres Schlachtalter nach sich zog. Dabei zeigte sich auch bei WIESE ET AL. (2003) eine dunklere Fleischfarbe mit einem tendenziell geringeren L\*-Wert bei Harnstoff mit 37,6 gegenüber Rapsexpeller mit 38,1. Umso bemerkenswerter ist im vorliegenden Versuch, eine signifikante Veränderung in der Farbhelligkeit bereits bei einem Unterschied von 11 Masttagen.

Zwischen den Geschlechtern konnten ebenfalls signifikante Unterschiede bei den Parametern Farbhelligkeit und Rotfärbung festgestellt werden, wobei weibliche Lämmer ein signifikant dunkleres Fleisch sowie eine signifikant intensivere Rotfärbung aufwiesen. Leider existieren zu diesen Parametern für Schafe in der Literatur nur vereinzelte Studien. So konnte QUANZ (1995) zwischen den Geschlechtern nur geringfügige Unterschiede in der Farbhelligkeit, gemessen mit

Optostar, nachweisen, während die Unterschiede zwischen den einzelnen Schafrassen deutlich höher ausfielen. Eine neuere Studie von HIEGEMANN (2002) ergab beim Schwein signifikant höhere Rotwerte im *M. longissimus dorsi* bei weiblichen im Vergleich zu männlichen Tieren, während der Gelbwert keine geschlechtsspezifische Variation aufwies, wie auch im vorliegenden Versuch. Dagegen konnte bei letztgenanntem mit zunehmender ruminaler Abbaubarkeit des Proteinträgers eine geringere Gelbfärbung beobachtet werden. Dieses Ergebnis könnte einerseits wiederum auf die Unterschiede im Schlachtagter der Lämmer zurückgeführt werden, andererseits scheint gerade der Gelbwert innerhalb der Rasse Merino bei vergleichbarer Lebendmasse und Fütterung größeren Schwankungen unterworfen zu sein (siehe Tabelle 50). So beträgt dieser beim Merino Branco mit 4-5 lediglich die Hälfte des  $b^*$ -Wertes des Spanischen Merinos. Dementsprechend könnte die relativ geringe Intensität der Farbsättigung der Fleischfarbe im vorliegenden Versuch möglicherweise auch durch den Rassetyp des Deutschen Merinolandschafs bedingt sein.

Tabelle 50: Parameter der Fleischfarbe bei der Rasse Merino

	Ration	LM	L*	a*	b*	Quelle
Spanisches Merino	kraftfutterbetont	30-32	40	16	7	MARTINEZ ET AL. (2005)
Merino Branco	kraftfutterbetont	30-35	38-41	15-18	4-5	SANTOS-SILVA ET AL. (2003)
Dt. Merinolandschaf	kraftfutterbetont	39-42	37-40	15-16	3-4	VORLIEGENDE STUDIE

Eine weitere Erklärung für erniedrigte Gelbwerte bestünde in der Gefrierung des Fleisches vor der Untersuchung (SAÑUDO ET AL., 2007). Da die Untersuchung der Fleischfarbe jedoch am gekühlten Fleisch stattfand, scheidet diese Möglichkeit aus.

Die chemische Zusammensetzung des *M. longissimus dorsi* stimmt in den Parametern TS-Gehalt, XP- und XL in der OS sehr gut mit den Werten schweizerischer Lämmer aus einer Untersuchung von DUFÉY UND WIRZ (1995) überein, die die chemische Zusammensetzung von Lammfleisch aus den Ländern Schweiz, Neuseeland und Großbritannien überprüften. Rationseffekte konnten im vorliegenden Versuch bei diesen Parametern nicht beobachtet werden.

Dagegen übte das Geschlecht einen signifikanten Einfluss auf den TS-Gehalt des *M. longissimus dorsi* aus. Der signifikant höhere Wassergehalt der Bocklämmer steht in Beziehung mit ihrem geringeren intramuskulären Fettgehalt und somit auch auf ihren signifikant höheren XP-Gehalt in der TS. Denn nach HONIKEL (1998) werden 80-90 % des im Muskel befindlichen Wassers zwischen den Proteinfäden festgehalten. Studien von KRAUTH (1987); RINGDORFER (1990) und

BELLOF ET AL. (2003A) stellten ebenfalls einen signifikant höheren XL-Gehalt bei weiblichen Tieren im Vergleich zu männlichen fest, wobei diese Unterschiede auf den stärkeren Fettansatz bei weiblichen Tieren zurückzuführen sind (BELLOF ET AL., 2003A).

Neben dem Geschlecht nehmen auch Mastendgewicht, Rasse und Haltungsform Einfluss auf den XL-Gehalt des Fleisches. So nimmt der XL-Gehalt mit steigendem Mastendgewicht zu und beträgt nach SÜSS UND V. LENGERKEN (1998) bei 35-40 kg schweren Lämmern 1,5 bis 5,5 %. Beim Vergleich mit anderen Studien des XL-Gehaltes bei der Rasse Merinolandschaf sind die erzielten 2,6 bis 3,0 % gut mit den 2,0-3,5 % XL von SÜSS ET AL. (1997) vergleichbar, während FREUDENREICH (1993) mit 1,6 und HOLZER ET AL. (1996) mit 1,8 deutlich niedrigere Werte erreichten. Eine mögliche Ursache könnte im gewählten Messbereich liegen. Denn selbst innerhalb eines Muskels existieren nach SÜSS UND V. LENGERKEN (1998) Unterschiede im XL-Gehalt. So geben die Autoren als Referenzstelle den Übergang zwischen dem 13. Brustwirbel und dem 1. Lendenwirbel an, welcher geringe IMF-Werte von 2,54 gegenüber dem vorliegenden Versuch aufwies. Bei weiterer Messung in Richtung kaudal stiegen die Werte auf 2,96 % und nach cranial auf 3,36 %. Im vorliegenden Versuch wurde der IMF weiter cranial zwischen dem 10. und 13. Brustwirbel mit 2,6 bis 3,0 gemessen, möglicherweise könnten so die höheren Werte gegenüber SÜSS UND V. LENGERKEN (1998) bedingt durch den gewählten Messpunkt gewesen sein.

Da der XL-Gehalt des *M. longissimus dorsi* dem intramuskulären Fettgehalt (IMF) entspricht, kennzeichnet er den Grad der Marmorierung des Fleisches. DIKEMANN (1987) fordert für Lammfleisch eine Untergrenze von 3 %, da der IMF das Fleischaroma positiv beeinflusst. Das sensorische Optimum liegt nach HEYLEN ET AL. (1998) sogar in einem noch höheren Bereich von 3,5-4,5 %. Legt man diese Zahlen zugrunde, so haben ausschließlich die Lämmer der Gruppe KP unabhängig vom Geschlecht sowie die weiblichen Lämmer der Rationen AB und HA diese Vorgaben erfüllt. Jedoch darf nicht vergessen werden dass hohe IMF-Gehalte ebenfalls eine stärkere Verfettung des gesamten Schlachtkörpers nach sich ziehen, wie die höheren Fettklassen der Gruppen AB und HA belegen.

Anhand des Proteingehaltes im Körper zu Beginn und zum Ende der Mast wurde nach AFRC (1993) unter Berücksichtigung des Körperprotein- und Wollproteinansatzes die N-Ausscheidung der Lämmer berechnet (siehe Tabelle 51). Bezogen auf die gesamte Mastperiode ergab sich eine N-Ausscheidung von 1376 g/d für die Lämmer der Gruppe MK, gefolgt von 1527 g/d bei den Tieren der Gruppe KP und 1839 g/d bei AB sowie 1868 g/d bei den Lämmern der Gruppe HA. Daraus ist ein Einsparungspotential von bis zu 500 g N je Tier über die gesamte Mastdauer allein

## Kapitel 4

durch die Verwendung von Proteinträgern mit niedriger ruminaler Abbaubarkeit bei ansonsten vergleichbarer Rationszusammensetzung möglich. Gemessen an der aufgenommenen N-Menge resultierte aus dem Einsatz von Bypassproteinträgern bei der Ration MK eine Verminderung der N-Ausscheidung um 3,8 % gegenüber der Ration HA. Dementsprechend lag die N-Verwertung der Lämmer der Gruppe MK bei 20,2 %, woraus sich gegenüber Mastrindern mittlerem Leistungsniveaus (1000 g tägliche Zunahmen) eine bessere N-Verwertung ergibt (FLACHOWSKY UND LEBZIEN, 2006). Im Vergleich zu den Angaben von LOBLEY (1992) fällt auf, dass selbst die im vorliegenden Versuch schlechteste N-Verwertung der Lämmer der Gruppe HA mit 16,4 % immer noch besser ausfällt als die von diesem Autor angegebene N-Verwertung der Lämmern von 13 %.

Die im vorliegenden Versuch erzielte Leistungssteigerung wirkt sich ebenfalls indirekt positiv auf die Methanproduktion aus. Legt man eine mittlere Methanproduktion von 16 l/d für intensiv gemästete Lämmer in diesem Gewichtsabschnitt zugrunde, ergibt sich eine Einsparung von 480 l CH<sub>4</sub> bei der Ration MK im Vergleich zur Ration HA infolge der verkürzten Mastdauer.

Tabelle 51: N-Ausscheidung in Abhängigkeit von Abbaubarkeit und AS-Zusammensetzung der Futterrationen

Ration	MK	KP	AB	HA
RDN in %	64	60	81	85
AS-Qualität UDP	schlecht	gut	gut	schlecht
N-Ansatz Körper g/Tier/Tag*	5,7	5,0	4,3	3,4
N-Ansatz Wolle g/Tier/Tag**	1,0	1,0	0,9	0,8
N-Ansatz gesamt g/Tier/Tag	6,7	6,0	5,2	4,2
N-Aufnahme g/Tier über gesamte Mastdauer	1725	1884	2189	2235
N-Ansatz g/Tier über gesamte Mastdauer	349	357	350	367
N-Ausscheidung g/Tier über gesamte Mastdauer	1376	1527	1839	1868
N-Ausscheidung in Prozent der N-Aufnahme	79,8	81,0	84,0	83,6

\*Berechnung Proteinansatz für Bocklämmer nach Formel 94, AFRC (1993)

Berechnung Proteinansatz für weibliche Lämmer nach Formel 95, AFRC (1993)

\*\* Berechnung des Wollproteinansatzes der Lämmer nach Formel 103 AFRC (1993)

### **Schlussfolgerung:**

Der von SÜß UND V. LENGERKEN (1998) aufgestellten Behauptung, dass isoenergetische und isonitrogene Futterrationen zu keinen signifikanten Unterschieden in Mastleistung und Schlachtkörperparametern führen, kann nur teilweise zugestimmt werden, da Rationen mit einem hohem UDP-Anteil die Mastleistung verbesserten, was wiederum eine verbesserte Futtermittelverwertung nach sich zog. Gleichfalls war eine geringere ruminale Abbaubarkeit nicht mit nachteiligen Einflüssen auf den Schlachtkörper verbunden. Die AS-Zusammensetzung der Proteinträger übte weder auf Parameter der Mastleistung noch auf Parameter der Schlachtleistung signifikante Einflüsse aus und scheint zumindest im vorliegenden Versuch von untergeordneter Bedeutung gewesen zu sein.

Eine Erhöhung des Bypassproteinanteils bewirkte zusätzlich eine Abnahme der N-Ausscheidung bezogen auf die N-Aufnahme und somit eine Verbesserung der N-Verwertung auf bis zu 20 %. Diese für Lämmer als gut einzustufende N-Verwertung wurde bereits bei einem XP-Gehalt der Ration von 16 % erzielt. Gleichzeitig erwies sich die verwendete XP-Konzentration als ausreichend für tägliche Zunahmen von knapp 400 g. Dementsprechend sollten herkömmlich eingesetzte Kraftfuttermischungen für Lämmer auf Einsparungsmöglichkeiten hinsichtlich N bzw. XP überprüft werden. Außerdem ist zu bemerken, dass für ein hohes Produktionsniveau in der Lämmermast, eine hohe Futteraufnahme sowie eine pansengerechte Ration wie im vorliegenden Versuch Voraussetzung sind.

Mit einer Leistungssteigerung in Form einer verkürzten Mastdauer ist sowohl eine Abnahme der ausgeschiedenen N-Menge je Einheit erzeugten Produktes (Fleisch) als auch eine Reduktion des emittierten Methans in die Umwelt verbunden. Denn hohe tägliche Zunahmen vermindern in hohem Maße die produzierte Methanmenge je Einheit der menschlichen Ernährung zugeführten tierischen Proteins. Dementsprechend trägt eine Verkürzung der Mastdauer effektiv zur Senkung der Methanemissionen bei.

## 4.5 Literaturverzeichnis

**AFRC (1993)**

Energy and protein requirements of ruminants, CAB International

**ARC (1980)**

The nutrient requirements of ruminant livestock,  
Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, London

**ATAGSOLU, C. UND R.J. WALLACE (2003)**

Metabolism and de novo synthesis of amino acids by rumen microbes, in: Amino acids in animal nutrition, Hrsg.: J.P.F. D'Mello, 2<sup>ND</sup> edition, CAB International

**BELOF, G., A. WOLF, J. NADERER, M. SCHUSTER UND W. HOLLWICH (2003A)**

Vergleichende Untersuchungen zum Einfluss von Fütterungsintensität, Geschlecht und Endgewicht auf die Mast- und Schlachtleistung von Lämmern der Rasse Merinolandschaf, Züchtungskunde 75, 53-68

**BELOF, G., A. WOLF UND W. HOLLWICH (2003B)**

Zum Einfluss von Geschlecht, Schlachtgewicht und Fütterungsintensität auf die grobgewebliche Zusammensetzung von Lämmern der Rasse Merinolandschaf, Züchtungskunde 75, 127-143

**BELOF, G., S. BAUMANN, G. QUANZ UND H.J. LÖHNERT (2006)**

Einsatz von Proteinträgern mit unterschiedlichem intraruminalen Abbauverhalten in der intensiven Lämmermast, Züchtungskunde 78, 153-165

**BENCHAAR, C., S. CALSMIGLIA, A.V. CHAVES, G.R. FRASER, D. COLOMBATTO, T.A. MC ALLISTER UND K.A. BEAUCHEMIN (2008)**

A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production, Anim. Feed Sci. Technol. 145, 209-228

**BUTTERY, P.J. UND A.N. FOULDS (1985)**

Amino acids requirements of ruminants, in: Recent advances in animal nutrition, Hrsg.: W. Haresign und D.J.A. Cole, Butterworths, London

**BIERMAN, S., T. KLOPFENSTEIN, R. STOCK UND D. SHAIN (1996)**

Evaluation of nitrogen, phosphorus and organic matter balance in the feedlot as affected by nutrition, Nebraska Beef Cattle Report, MP 66-A, 74-77, Universität Nebraska, Lincoln

**CHALUPA, W. (1975)**

Rumen bypass and protection of protein and amino acids, J. Dairy Sci. 28, 1198-1218

**CIE (1986)**

Internationale Energiekommission, CIE-Colorimetry, 2. Auflage CIE 15.2, Wien

**CVB (2000)**

Veevoedertabel, Chemische Samenstelling verteerbaarheid en voederwaarde van voedermiddelen herzkrene litgave mei 2000, Lelystad

**DEGUSSA (1996)**

Aminosäuregehalte von Futtermitteln, Degussa AG

**DIKEMAN, M.E. (1987)**

Fat reduction in animals and the effects on palatability and consumer acceptance of meat products, 40th Recip. Meat Conf., 93

**DLG (1997)**

Futterwerttabellen für Wiederkäuer, DLG-Verlag Frankfurt am Main

**DUFÉY, P.A. UND H. WIRZ (1995)**

Lammfleischqualität: inländisches und importiertes Fleisch, Agrarforschung 8, 309-312

- FISCHER, A., A. SCHOCH UND M. GIBIS (2002)**  
Methodensammlung zur chemisch-physikalischen Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen, Universität Hohenheim, Institut für Lebensmitteltechnologie, Auflage WS 2002/03
- FLACHOWSKY, G. (2008)**  
Klimafragen, Kraftfutter/Feed Magazine 1-2, 16-25
- FLACHOWSKY, G. UND P. LEBZIEN (2005)**  
Weniger Spurengase durch gezielte Ernährung der Nutztiere: Potenziale und Einflussmöglichkeiten bei Wiederkäuern und Nichtwiederkäuern, Forschungsrep Verbrauchersch Ern Landwirtsch(1) 7-9
- FLACHOWSKY, G. UND P. LEBZIEN (2006)**  
Possibilities for reduction of nitrogen (n) excretion from ruminants and the need for further research- a review, Landbauforschung Völkenrode 1/2, 19-30
- FLACHOWSKY, G. UND W. BRADE (2007)**  
Potenziale zur Reduzierung der Methan-Emissionen bei Wiederkäuern, Züchtungskunde 79, Vol. 6, 417-465
- FOGARTY, N.M., D.L. HOPKINS UND R. VANDE VEN (2002)**  
Lamb production from diverse genotypes. 2. Carcass characteristics, Anim. Sci. 70, 147-156
- FREUDENREICH, P. (1993)**  
Schlachtkörperwert und Fleischqualität von Schafen und Ziegen, in: Beiträge zur Erzeugung und Vermarktung von Fleisch, Hrsg.: Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbacher Reihe Band 12
- GLIMP, H.A., M.R. KARR, C.O. LITTLE, P.G. WOOLFOLK, G.E. MITCHELL JR UND L.W. HUDSON (1967)**  
Effect of reducing soybean protein solubility by dry heat on the protein utilization of young lambs, J. Anim. Sci. 26, 858-861
- GÖHLER, H. (1978)**  
Untersuchungen zur Bestimmung der Körperentwicklung und des Schlachtkörperwertes bei Lämmern, Dissertation Universität Leipzig
- HADDAD, S.G., K.Z. MAHMUD UND H.A. TALFAHA (2005)**  
Effect of varying levels of dietary undegradable protein on nutrient intake, digestibility and growth performance of awassi lambs fed on high wheat straw diets, Small Rum. Res. 58, 231-236
- HENNESSY, D.W. UND P.J. WILLIAMSON (1990)**  
Feed intake and liveweight of cattle on subtropical native pasture hays. II. The effect of urea and maize flour, or protected casein, Austr. J. Agric. Res. 41, 1179-1185
- HERDTLE, P. (1986)**  
Physiologische Parameter als Hilfsmerkmale zur Abschätzung der Schlachtkörperzusammensetzung in der Schafzucht, Dissertation, Universität Hohenheim
- HEYLEN, K., R. SUESS, P. FREUDENREICH UND G. V. LENGERKEN (1998)**  
Einfluss des intramuskulären Fettes auf die Qualität von Lammfleisch unter besonderer Berücksichtigung der Verzehrsqualität, Arch. Tierz. Dummerstorf 41, 111-122
- HIEGEMANN, H. (2002)**  
Vergleich zweier Zuführungssysteme zur Elektrobetäubung von Schlachtschweinen hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf die Fleischbeschaffenheit  
Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover
- HOLZER, A., J. NADERER, U. FRATZKE, M. SCHUSTER UND S. OPPELT (1996)**  
Schlachtkörper- und Fleischqualität von Bocklämmern verschiedener Rassen und Kreuzungen, Gruber Info 2

**HONIKEL, K.O. (1998)**

Physikalische Messmethoden zur Erfassung der Fleischqualität, in: Qualität von Fleisch und Fleischwaren Band 2, Hrsg.: W. Branscheid, K.O. Honikel, G. v. Lengerken und K. Troeger, Dt. Fachverlag, Frankfurt am Main

**HOPKINS, D.L. (1996)**

Assessment of lamb meat colour, Meat focus international 5, 400-401

**HUSSEIN, H.S. UND R.M. JORDAN (1991)**

Fish meal as a protein supplement in finishing lamb diets, J. Anim. Sci. 69, 2115-2122

**HVELPLUND, T., L. MAISCIATTELLI UND M.R. WEISBJERG (2001)**

Supply of the dairy cow with amino acids from dietary protein, J. Anim. Feed Sci. 10 (Suppl.1), 69-85

**INRA (2004)**

Tables of composition and nutritional value of feed materials, Wageningen Academic publishers

**JEROCH, H., W. DROCHNER UND O. SIMON (2008)**

Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere, 2. Auflage, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

**JONES, R., R. KNIGHT UND A. WHITE (1996)**

Nutrition of intensively reared lambs, in: Recent developments in ruminant nutrition 3, Hrsg.: P.C. Garnsworthy und D.J.A. Cole, Nottingham University Press

**KEMPSTER, A.J., D. CROSTON UND D.W. JONES (1987)**

Tissue growth and development in crossbred lambs sired by ten breeds, Livest. Prod. Sci. 16, 145-162

**KIRCHGESSNER, M., W. WINDISCH UND M. KREUZER (1991)**

Stickstoffemission laktierender Milchkühe über die Gülle in Abhängigkeit von der Leistungsintensität, Agr. Biol. Res. 44, 1-13

**KIRCHGESSNER, M., F.X. ROTH, F.J. SCHWARZ UND G. STANGL (2008)**

Tierernährung, 12. Auflage, DLG-Verlag

**KIRTON, A.H., D.P. SINCLAIR, B.B. CHRYSTALL, C.E. DEVINE UND E.G. WOODS (1981)**

Effect of plane of nutrition on carcass composition and the palatability of pasture-fed lamb, J. Anim. Sci. 52, 285-291

**KNAUS, W.F., D.H. BEERMANN, P.J. GUIROY, M.L. BOEHM UND D.G. FOX (2001)**

Optimization of rate and efficiency of dietary nitrogen utilization through the use of animal by-products and (or) urea and their effects on nutrient digestion in Holstein steers, J. Anim. Sci. 79, 753-760

**KRAUTH, R. (1987)**

Morphologische Parameter als Hilfsmittel zur Abschätzung der Schlachtkörperzusammensetzung in der Schafzucht unter besonderer Berücksichtigung von Ultraschallmaßen, Dissertation Universität Hohenheim

**KREHBIEL, C.R. UND C.L. FERRELL (1999)**

Effects of increasing ruminally degraded nitrogen and abomasal casein infusion on net portal flux of nutrients in yearling heifers consuming a high-grain diet, J. Anim. Sci. 77, 1295-1305

**KREMER, R., G. BARBATO, L. CASTRO, L. RISTA, L. ROSÉS, V. HERRERA UND V. NEIROTTI (2004)**

Effect of sire breed, year, sex and weight on carcass characteristics of lambs, Small Rum. Res. 53, 117-124

**LEDWARD, D.A., R.F. DICKINSON, V.H. POWELL UND W.R. SHORTHOSE (1986)**

The colour and colour stability of beef longissimus dorsi and semimembranosus muscles after effective electrical stimulation, Meat Sci. 16, 245-265

### **LFL (2006)**

Ergebnisse der Nachkommenprüfung auf Mast- und Schlachtleistung beim Schaf 2005/2006 , <http://www.lfl.bayern.de/>

### **LOBLEY, G.E. (1992)**

Control of the metabolic fate of amino acids in ruminants: a review, *J. Anim. Sci.* 1992, 70, 3264-3275

### **LOERCH, S.C. UND L.L. BERGER (1981)**

Feedlot performance of steers and lambs fed bloodmeal, meat and bone meal, dehydrated alfalfa and soybean meal as supplemental protein source, *J. Anim. Sci.* 56, 206-216

### **LÖFFLER, K. (1994)**

Anatomie und Physiologie der Haustiere, 9. Auflage, Eugen Ulmer Verlag,

### **MAENG, W.J., H.PARK UND H.J. KIM (1997)**

The role of carbohydrate supplementation in microbial protein synthesis in the rumen, in: *Rumen microbes and digestive physiology in ruminants*, Hrsg.: R. Onodera et al., Japan Scientific Press, Tokyo/S. Karger, Basel

### **MARTINEZ-CEREZO, S., C. SAÑUDO, B. PANEA, I. MEDEL, R. DELFA, I. SIERRA, J.A. BELTRÁN, R.CEPERO UND J.L. OLLETA (2005)**

Breed, slaughter weight and ageing time effects on physico-chemical characteristics of lamb meat, *Meat Sci.* 69, 325-333

### **MENDEL, C., A. STEINER, T. WAGENPFEIL (2009)**

Mast- und Schlachtleistungsprüfung 2007/2008, *Der Bayerische Schafhalter* 1, 7-8

### **MERCHEN, N.R. UND E.C. TITGEMEYER (1992)**

Manipulation of amino acid supply to the growing ruminant, *J. Anim. Sci.* 70, 3238-3247

### **MANSO, T., A.R. MANTECÓN, F.J. GIRALDEZ, P. LAVIN UND T. CASTRO (1998)**

Animal performance and chemical body composition of lambs fed diets with different protein supplements, *Small Rum. Res.* 29, 185-191

### **MORRISON, M. UND R.I. MACKIE (1996)**

Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives, *Aust. J. Agric.Res.* 47, 227-246

### **NADERER, J., M. WAGENPFEIL UND A. STEINER (2001)**

Mast- und Schlachtwertprüfung, *Der Bayerische Schafhalter* 1, 6-8

### **NADERER, J. (1998)**

Schaf, in: *Exterierbeurteilung landwirtschaftlicher Nutztiere*, Hrsg.: G. Brem, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

### **NIMRICK, K., E.E. HATFIELD, J. KAMINSKI UND F.N. OWENS (1970A)**

Qualitative assessment of supplemental amino acid needs for growing lambs fed urea as the sole nitrogen source, *J. Nutrition* 100, 1293-1300

### **NIMRICK, K., E.E. HATFIELD, J. KAMINSKI UND F.N. OWENS (1970B)**

Quantitative assessment of supplemental amino acid needs for growing lambs fed urea as the sole nitrogen source, *J. Nutrition* 100, 1301-1306

### **NOLAN, J.V. UND R.C. DOBOS (2005)**

Nitrogen transactions in ruminants, in: *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, Hrsg.: J. Dijkstra, J.M. Forbes und J. France, 2<sup>nd</sup> edition, CAB International

### **NRC (1985)**

Ruminant nitrogen usage, Hrsg.: Subcommittee on nitrogen usage in ruminants, National Academic Press, Washington DC

### **NRC (2007)**

Nutrient requirements of small ruminants, National Academic Press, Washington DC

### **OFFNER, A., A. BACH UND D. SAUVANT (2003)**

Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen, *Animal Feed Sci. Technol.* 106, 81-93

**ONODERA, R. UND K. KUGA (1987)**

Effect of inhabitation by rumen protozoa on the nutritive value of protein in rumen contents, *Agric. Biol. Chem.* 51, 1417-1424

**ØRSKOV, E.R. (1980)**

Possible nutritional constraints in meeting energy and amino acid requirements of the highly productive ruminant, in: *Digestive physiology and metabolism in ruminants*, Hrsg.: Y. Ruckebusch und P. Thivend, Lancaster MTP Press

**ØRSKOV, E.R. (1992)**

Protein nutrition in ruminants, 2. Auflage, Academic Press, London

**ØRSKOV, E.R., C. FRASER UND I. McDONALD (1972)**

Digestion of concentrates in sheep, 4. The effects of urea on digestion, nitrogen retention and growth in young lambs, *Br. J. Nutr.* 27, 491-501

**ØRSKOV, E.R., C. FRASER, I. McDONALD UND R.I. SMART (1974)**

Digestion of concentrates in sheep, 5. The effect of adding fish meal and urea together to cereal diets on protein digestion and utilization by young sheep, *Br. J. Nutr.* 31, 89-98

**PLEGGE, S.D., L.L. BERGER UND G.C. FAHEY JR (1983)**

Performance of growing and finishing steers fed roasted soybean meal, *J. Anim. Sci.* 57, 1374-1382

**POND, W.G. (1984)**

Response of growing lambs to clinoptilolite or zeolite NaA added to corn, corn-fishmeal and corn-soybean meal diets, *J. Anim. Sci.* 59, 1320-1328.

**PRÄNDL, O. (1988)**

Zusammensetzung und technologische Eigenschaften des Fleisches, in: *Handbuch der Lebensmitteltechnologie: Fleisch, Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung*, Hrsg.: O. Prändl, A. Fischer, T. Schmidhofer und K.-J. Sinek, Verlag Eugen Ulmer

**QUANZ, G. (1990)**

Auswirkungen verschiedener Mastverfahren auf die Schlachtkörperqualität von Lämmern, *Deutsche Schafzucht* 23, 496-498

**QUANZ, G. (1995)**

Lammfleisch ist (k)eine Geschmacksfrage, *Deutsche Schafzucht* 26, 640-643

**REMPPI, S., H. STEINGAB UND W. DROCHNER (2006)**

Einfluss der ruminalen Abbaubarkeit von Rohprotein und Kohlenhydraten auf den Stickstoff- und Energieumsatz bei Mastlämmern, 117. VDLUFA Kongress Bonn, Kurzfassungen der Referate

**RINGDORFER, F. (1990)**

Untersuchungen zur Mast- und Schlachtleistung von Bergschaflämmern und Kreuzungslämmern mit Schwarzkopf, Suffolk und Texel, in: *Alternative Formen der Tierhaltung im Grünlandgebiet und deren Wirtschaftlichkeit*, Veröffentlichungen Heft 13, BAL Gumpenstein, 23-46

**RINGDORFER, F. (1997)**

Einfluss der Energie- und Proteinversorgung auf die Mast- und Schlachtleistung von Lämmern, 24. Tierzuchttagung „Züchtung, Haltung, Proteinbedarf, Fruchtbarkeit und Silierung“, BAL Gumpenstein 6.-7.5.1997, 25-30

**SALISBURY, M.W., C.R. KREHBIEL, T.T. ROSS, C.L. SCHULTZ UND L.L. MELTON (2004)**

Effects of supplemental protein type on intake, nitrogen balance and site, and extent of digestion in whiteface wethers consuming low-quality grass hay, *J. Anim. Sci.* 82, 3567-3576

- SANTOS-SILVA, J., R.J.B. BESSA UND I.A. MENDES (2003)**  
The effect of supplementation with expanded sunflower seed on carcass and meat quality of lambs raised on pasture, *Meat Sci.* 65, 1301-1308
- SAÑUDO, C., M.M. CAMPO, J.L. OLLETA, M.JOY UND R. DELFA (2007)**  
Methodologies to evaluate meat quality in small ruminants, in: Evaluation of carcass and meat quality in cattle and sheep, Hrsg.: C. Lazzaroni, S.Gigli, D. Gabiña, EAAP publication No.123, 81-104
- SCHELLING, G.T. UND E.E. HATFIELD (1968)**  
Effect of abomasally infused nitrogen sources on nitrogen retention of growing lambs, *J. Nutrition* 96, 319-326
- SCHELLING, G.T., J.E. CHANDLER UND G.C. SCOTT (1973)**  
Postruminal supplemental methionine infusion to sheep fed high quality diets, *J. Anim. Sci.* 50, 319-324
- SCHIEFER, G. UND E. SCHARNER (1977)**  
Einfluss von Alter, Lebendmasse, Geschlecht und Geburtstyp auf ausgewählte Qualitätsparameter von Mastflammfleisch, *Archiv für Tierzucht* 20, 129-136
- SCHLOLAUT, W., I. SCHÖN UND K. ADGE (1974)**  
Mastleistung und Schlachtkörperwert von Merinolandschaftflämmern bei unterschiedlicher Fütterungsintensität, *Züchtungskunde* 46, 302-308
- SCHROEDER, G.F. UND E.C. TITGEMEYER (2008)**  
Interaction between protein and energy supply on protein utilization in growing cattle: A review, *Livestock Sci.* 114, 1-10
- SCHWAB, C.G. (1995)**  
Protected protein and amino acids for ruminants, in: Biotechnology in animal feeds and feeding, Hrsg.: R.J. Wallace und A. Chesson, VCH Verlagsgesellschaft mbH
- SCHWÄGELE, F. (1992)**  
Erfassung von Qualitätsmerkmalen nach dem Schlachten, in: Qualitätssicherung im Fleischbereich Hrsg.: Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbacher Reihe Band 11
- SHERROD, L.B. UND A.D. TILLMANN (1962)**  
Effects of varying the processing temperatures upon the nutritive values for sheep of solvent-extractes soybean and cottonseed meals, *J. Anim. Sci.* 21, 901
- SHIRLEY, R.L. (1986)**  
Nitrogen and energy nutrition of ruminants, Academic Press, Inc.
- SILVA, A.M.A., A.G. SILVA SOBRINHO, I.A.C.M. TRINDADE, K.T. RESENDE UND O.A. BAKKE (2007)**  
Net and metabolizable protein requirements for body weight gain in hair and wool lambs, *Small Rum. Res.* 67, 192-198
- SINDT, M.H., R.A. STOCK, UND T.J. KLOPFENSTEIN (1994)**  
Urea vs. urea and escape protein for finishing calves and yearlings, *Anim. Feed Sci. Technol.* 49, 103-117
- STEINGAß, H. UND K.-H. MENKE (1986)**  
Schätzung des energetischen Futterwerts aus der in vitro mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse, I. Untersuchungen zur Methode. Übers. *Tierernährg.* 14, 251-270
- STEINGAß, H., D. NIBBE, K.-H. SÜDEKUM, P. LEBZIEN UND H. SPIEKERS (2001)**  
Schätzung des nXP-Gehaltes mit Hilfe des modifizierten Hohenheimer Futterwerttests und dessen Anwendung zur Bewertung von Raps- und Sojaextraktionsschroten, 113. VDLUFA-Kongress Berlin, Kurzfassungen der Vorträge, 114
- STOCK, R., N. MERCHEN, T. KLOPFENSTEIN UND M. POOS (1981)**  
Feeding value of slowly degraded proteins, *J. Anim. Sci.* 53, 1109-1119

**STORM, E. UND E.R. ØRSKOV (1984)**

The nutritive value of rumen microorganisms in ruminants, 4. The limiting amino acids of microbial protein in growing sheep determined by a new approach, Br. J. Nutr. 52, 613-620

**SÜSS, R., K. HEYLEN UND G. V. LENGERKEN (1997)**

48<sup>th</sup> Annual Meeting, EAAP Wien, zitiert in R. Süß und M. Altmann: Fleisch- und Fettqualität von Lämmern verschiedener Herkünfte, Internationale Fachtagung für Schafhaltung 30-31. Jänner 2003, BAL Gumpenstein

**SÜSS, R. UND G. V. LENGERKEN (1998)**

Schlachtwert des Schafes und der Ziege, in: Qualität von Fleisch und Fleischwaren Band 1, Hrsg.: W. Branscheid, K.O. Honikel, G. v. Lengerken und K. Troeger, Dt. Fachverlag, Frankfurt am Main

**TAMMINGA, S. (1992)**

Nutrition Management of dairy cows as a contribution to pollution control, J. Dairy Sci. 75, 345-357

**TEIXEIRA, A., S. BATISTA, R. DELFA UND V. CAVADEZ (2005)**

Lamb meat quality of two breeds with protected origin designation. Influence of breed, sex and live weight, Meat Sci. 71, 530-536

**TITGEMEYER, E.C. (2003)**

Amino acid utilization by growing and finishing ruminants, in: Amino acids in animal nutrition, Hrsg.: J.P.F. D'Mello, 2nd edition, CAB International

**URBANIAK, M. (1995)**

Effects of blood meal, fish meal, soybean meal or casein on rumen protein metabolism in lambs, Small Rum. Res. 18, 207-212

**VELASCO, S., S. LAURZURICA, V. CAÑEQUE, C. PERÉZ, F. HUIDOBRO, C. MANZANARES UND T. DIAZ (2000)**

Carcass and meat quality of Talaverana breed suckling lambs in relation to gender and slaughter weight, Anim. Sci. 70, 253-263

**VELASCO, S., V. CAÑEQUE, S. LAURZURICA, C. PERÉZ UND F. HUIDOBRO (2004)**

Effect of different feeds on meat quality and fatty acid composition of lambs fattened at pasture, Meat Sci. 66, 457-465

**VIRTANEN, A.I. (1966)**

Milk production of cows on protein-free feed, Science 153, 1603-1614

**WALLACE, R.J. (1994)**

Amino acid and protein synthesis, turnover and breakdown by ruminal microorganisms, in: Principles of protein nutrition of ruminants, Hrsg.: J.M. Asplund, CRC Press, Florida

**WIESE, S.C., C.L. WHITE, D.G. MASTERS, J.T.B. MILTON UND R.H. DAVIDSON (2003)**

Growth and carcass characteristics of prime lambs fed diets containing urea, lupins or canola meal as a crude protein source, Austr. J. Exp. Agric. 43, 1193-1197

**ZINN, R.A. UND F.N. OWENS (1993)**

Ruminal escape protein for lightweight feedlot calves, J. Anim.Sci. 71, 1677-1687

---

# Kapitel 5

---

## GESAMTDISKUSSION

### Gesamtdiskussion

Das vorrangige Ziel der N-Versorgung des Wiederkäuers ist ein möglichst geringer XP bzw. N-Einsatz, um maximale Leistungen in Form von Milch, Fleisch und Wolle zu erreichen (NOLAN UND DOBOS, 2005). Gleichzeitig führt eine effiziente N-Verwertung zu geringeren N-Ausscheidungen.

In dieser Arbeit wurde die N-Versorgung hinsichtlich N-Quelle, N-Menge, Abbaubarkeit des N im Pansen sowie der AS-Zusammensetzung des UDP auf ihre Möglichkeiten in der Verbesserung der N-Versorgung sowie der Verminderung der N-Ausscheidung überprüft. Gleichzeitig sollten verschiedene N-Versorgungsvarianten auf ihr Potential zur Verminderung der CH<sub>4</sub>-Ausscheidung untersucht werden. Hintergrund hierfür sind mehrere Interaktionen zwischen N-Versorgung und Methanproduktion:

1. Aus dem ruminalen Proteinabbau per se entsteht Methan (KIRCHGESSNER ET AL., 1994)
2. Bei einer Erhöhung der mikrobiellen Biomasse steht weniger H<sub>2</sub> für die Methanbildner zur Verfügung
3. Eine nach Quantität und Qualität unterschiedliche N-Versorgung des Pansens kann die Effizienz des mikrobiellen Wachstums und die Relation zwischen den Endprodukten der Fermentation beeinflussen, wovon auch die Methanproduktion betroffen wäre (BEEVER UND COTTRILL, 1993).
4. Der N-Bedarf der Methanbildner ist in der Literatur nur ansatzweise beschrieben, demnach könnten Unterschiede zu den übrigen Mikroben des Pansens bestehen.

Von diesen Punkten ausgehend wurde zunächst *in vitro* überprüft, ob durch eine Reduktion der N-Zufuhr oder eine Veränderung der N-Quelle die Methanproduktion begrenzt werden kann. Es zeigte sich jedoch, dass der N-Bedarf der Methanbildner unter dem der übrigen Pansenmikroorganismen anzusiedeln ist, weshalb diese Möglichkeit zur Verminderung der Methanproduktion über eine modifizierte N-Versorgung ausscheidet.

Mit der Angleichung der Abbauraten der CHO- und N-Quellen sollte vor allem die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese gesteigert werden, was in verschiedenen Untersuchungen wie z.B. von SINCLAIR ET AL. (1993, 1995) nachgewiesen worden war.

In der vorliegenden Arbeit konnten jedoch mittels einer synchronen Rationsgestaltung keine positiven Effekte erzielt werden.

### Schwierigkeiten bei der Synchronisierung in der vorliegenden Arbeit könnten gewesen sein:

1. Die Ergebnisse der Synchronisierung sind nicht immer leicht zu trennen von Futtermittel- bzw. Rationseffekten
2. Die N-Quelle Harnstoff war mit niedrigeren Leistungen und höherer N-Ausscheidung verbunden
3. Kann die Ausscheidung von Purinmetaboliten als zuverlässige Methode zur Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese betrachtet werden?

Wenn für die Formulierung synchroner bzw. asynchroner Rationen Futtermittel ausgetauscht werden, ist damit gleichzeitig eine Variation von CHO- und N-Quelle verbunden. Deshalb wurden im vorliegenden Versuch nicht verschiedene Futtermittel, sondern bei zwei festgelegten CHO-Quellen unterschiedlicher Abbaugeschwindigkeit lediglich die N-Quelle variiert. Dieses Vorgehen ermöglichte weitgehend, rationsbedingte Einflüsse zu vermeiden. Jedoch wurden zumindest Veränderungen in der Konzentration der verzweigt-kettigen Fettsäuren *in vitro* auf einen Effekt der eingesetzten Protein- bzw. N-Träger zurückgeführt.

Da Harnstoff bereits nach 30 Minuten vollständig im Pansen abgebaut ist (ØRSKOV UND MILLER, 1988), müssten auf der Seite der CHO-Quelle sehr hohe Anteile Zucker eingesetzt werden, um einen möglichst synchronen Abbau zu induzieren. Da hohe Zuckermengen beim Wiederkäuer mit der Gefahr einer Pansenacidose verbunden sind, wird daraus geschlossen, dass Harnstoff zur Synchronisierung von Futterrationen nur bedingt geeignet ist bzw. eine Synchronisierung mittels modifiziertem HFT bei dieser N-Quelle nur begrenzt möglich ist. Des Weiteren muss bedacht werden, dass auch die CHO-Quelle gewisse Mengen abbaubaren N enthält, dessen Abbau durch den supplementierten Harnstoff nicht unterbunden wird. Wenn dementsprechend der freigesetzte N aus übrigem Futter zusammen mit dem über den ruminohepatischen Kreislauf rezykliertem N bereits ausreichend ist für maximales mikrobielles Wachstum, bleibt eine Harnstoffzulage ohne Erfolg (ØRSKOV ET AL., 1974).

Als mögliche Fehlerquellen bei der Methode der Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese über die Ausscheidung der Purinmetaboliten kommen folgende Punkte in Betracht:

1. Dem Abbau im Pansen entgangene Futterpurine stellen zwar eine geringe Menge der Purine, die zum Duodenum gelangen dar, aber das Ausmaß könnte höher sein bei Rationen mit relativ hohen Anteilen UDP (SHINGFIELD, 2000).
2. Nach MAKKAR (2004) zeigten Tracerstudien, dass beim Schaf die Geschwindigkeit der Allantoinexkretion vom Transport durch multiple Flüssigkeitskompartimente im Körper

beeinflusst wird. Auch die Wiederfindung von im Mittel 84 % scheint einer höheren Variabilität als bislang angenommen zu unterliegen.

3. SIDDONS ET AL. (1982) stellten fest, dass bei Lagerung des Urins vor der Analyse geringere Wiederfindungen infolge eines durch Ribonuclease katalysierten Abbaus der Purinderivate auftraten. Da die Urinproben im Versuch tiefgefroren wurden bis zur Analyse wäre ein Einfluss durch die Lagerung denkbar.

Die im Versuch erhaltenen ausgeschiedenen Purinmetaboliten stimmten gut mit den in der Literatur beschriebenen Angaben überein (CHEN ET AL., 1992; LINDBERG ET AL., 1989), deshalb ist nicht von methodisch bedingten Effekten in der vorliegenden Arbeit auszugehen.

Eine weitere Möglichkeit des ausbleibenden Effektes der Synchronisierung könnte darin bestehen, dass die Tiere verschiedene Mechanismen besitzen, um die vorgegebene Asynchronität einer Ration auszugleichen wie z.B.

- Steuerung des Zeitpunkts und der Häufigkeit der Futterraufnahme verschiedener Komponenten (Heu, Kraftfutter)
- Rezyklierung von N via Speichel oder Pansenwand über den ruminohepatischen Kreislauf. So wird von HOLDER ET AL. (1995) und SCOLLAN ET AL. (1997) berichtet, dass bei asynchroner Rationskonzeption die Rezyklierung des Harnstoffs zunimmt. Nach GfE (2001) kann bis zu 20 % des synthetisierten mikrobiellen N aus rezykliertem Harnstoff stammen.

Die Kapazität der Harnstoffrezyklierung von Lämmern wird jedoch in der Literatur kontrovers beschrieben. Nach ALLEN UND MILLER (1976) bestehen große Unterschiede zwischen adulten Hammeln und Lämmern, wobei Lämmer die effizientere N-Nutzung aufwiesen. Allerdings konnten ØRSKOV ET AL. (1972) bei Einsatz von Harnstoff keine geringere Kapazität des N-Recyclings bei Lämmern im Vergleich zu adulten Tieren feststellen.

- Speicherung von CHO durch Mikroben, insbesondere Protozoen während Zeiten des N-Mangels und CHO-Überschusses

In den Bilanzversuchen wurde jeweils die höchste N-Retention bei Verwendung der langsam abbaubaren Proteinträgermischung erzielt. Da die Rationen auf Basis von XP konzipiert wurden, wäre denkbar, dass Unterschiede in der nXP-Versorgung der Lämmer hinsichtlich variierender Anteile UDP zu diesem Ergebnis geführt haben. Denn beim Wiederkäuer ist

## Kapitel 5

besonders zu beachten, dass gleichermaßen der N-Bedarf der Mikroben im Pansen als auch der AS-Bedarf des Wirtstiers erfüllt werden muss.

In Tabelle 52 ist die nXP-Aufnahme der Bilanzversuche dargestellt. Das mikrobielle Protein wurde über die Ausscheidung an Purinmetaboliten ermittelt. Für die Bestimmung des UDP wurde eine in situ Inkubation der Futterrationen nach ØRSKOV UND McDONALD (1979) durchgeführt.

Tabelle 52: nXP-Versorgung in den Bilanzversuchen

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS
Synchronitätsstufe	syn	med	asy	asy	med	syn
nXP g/d	139	141	126	130	132	124
MP g/d	114	114	101	117	118	111
UDP g/d	25	27	24	13	14	13
nXP g/kg TS	138	135	131	125	129	124
MP g/kg TS	113	109	105	112	115	111
UDP g/kg TS	25	26	25	12	14	13

Zwischen den CHO-Quellen sind Unterschiede in der nXP-Versorgung festzustellen, innerhalb der CHO Quelle fällt bezogen auf die absolute Aufnahme jeweils die Ration mit Harnstoff als N-Quelle schlechter gegenüber den anderen Rationen aus. Auch Rationen mit einer nXP-Aufnahme von 124 g hätten für das Wachstum ausgereicht. Demnach wirkte sich die nXP-Versorgung nicht begrenzend auf das Wachstum aus.

Interessanterweise ist jedoch zu bemerken, dass jeweils nicht die Rationen mit der langsamen N-Abbaurate gleichzeitig das meiste UDP aufweisen und insgesamt nur geringe Unterschiede in der UDP-Versorgung innerhalb der jeweiligen CHO-Quellen Mais bzw. Erbsen-Stärke-Zuckergemisch bestehen. Diese Resultate stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen von STEINGAß ET AL. (2003). In letztgenannter Studie führte ein hoher UDP-Anteil von Kartoffelweiweiß insgesamt zu einer Verbesserung der nXP-Versorgung. Allerdings ist anzumerken, dass in der angeführten Studie einerseits Futtermittel mit wesentlich höheren Bypassanteilen gegenüber Molkenprotein verwendet wurden und von letzterem ausgegangen wird, dass dieses ebenfalls nach 24 h vollständig im Pansen abgebaut ist. Andererseits wurden im Versuch STEINGAß ET AL. (2003) ältere Lämmer mit einer mittleren Lebendmasse von 46 kg eingesetzt, bei denen die Funktionalität der Vormägen erhöht gewesen sein dürfte.

Nach VOLDEN (1999) ist auch eine geringere intestinale Verdaulichkeit des UDP denkbar, welche Veränderungen in der N-Retention nach sich ziehen könnte. Um diesen Ansatz zu

## Kapitel 5

überprüfen, wurde der ADF-N als Maß für den unverdauliche Futter-N im Kot der Lämmer bestimmt, um daraus die Verdaulichkeit des UDP berechnen zu können, welche in Tabelle 53 zusammen mit der Verdaulichkeit des nXP dargestellt ist.

Tabelle 53: Versorgung der Tiere mit wahr verdaulichem nXP und UDP

Ration	LL	LM	LS	SL	SM	SS
Synchronitätsstufe	syn	Med	Asy	asy	med	syn
Aufgenommenes nXP g/kg met. LM	11,0	10,7	10,4	10,2	10,7	10,3
Wahr verdautes nXP g/kg met. LM	10,9	10,6	10,3	10,2	10,6	10,2
Wahr verdautes UDP g/kg met. LM	1,70	1,69	1,68	0,86	0,91	0,86

Aus Tabelle 53 ist ersichtlich, dass die auf diese Weise berechnete wahre Verdaulichkeit sehr hoch ist und nur geringe Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen. Daher ist naheliegend, dass kein Zusammenhang zwischen der Versorgung mit wahr verdaulichem nXP bzw. UDP und dem Wachstum bestand. Dies zeigt sich auch durch die äußerst schlechten Beziehungen zwischen XP, nXP und UDP in bezug auf den in den Bilanzversuchen erhaltenen retinierten N (siehe Tabelle 54).

Tab. 54: Lineare Regressionen zwischen Parametern der N-Versorgung und N-Ansatz

	Lineare Regression	R <sup>2</sup>
Aufgenommener N versus retinierter N	0,027 x + 0,338	0,039
Aufgenommenes nXP versus retinierter N	-0,004 x + 0,749	0,004
Wahr verdauliches nXP versus retinierter N	-0,004 x + 0,748	0,004
Wahr verdauliches UDP versus retinierter N	0,029 x + 0,660	0,017

Ebenfalls möglich wäre, dass die AS-Zusammensetzung des UDP nicht geeignet ist, um den Bedarf der Tiere an limitierenden AS zu decken, da die Qualität des UDP Einfluss nimmt, welche AS limitierend ist (MERCHEN UND TITGEMEYER, 1992). Da das XP der Futtermittel unterschiedlichen Abbaugeschwindigkeiten unterliegt, könnte außerdem ein differenziertes AS-Muster des UDP gegenüber dem Futterprotein vorliegen. In der Literatur sind die Ansichten hierzu kontrovers. GANEV ET AL. (1979) fanden eine gute Übereinstimmung der AS-Zusammensetzung zwischen Futterprotein und UDP nach 9-stündiger in situ Inkubation im Schafpansen. Dagegen stellten CHALUPA (1976) und BRODERICK UND BALTHROP (1979) fest, dass die Aminosäuren im Pansen unterschiedlich schnell metabolisiert werden.

Für einen Vergleich des AS-Muster der Futtermittel mit dem des unabgebauten Futterproteins wurden zunächst die einzelnen Futtermittel des **Mastversuchs** (Kapitel 4) in situ im Pansen von

## Kapitel 5

zwei fistulierten Kühen nach der Methode von ØRSKOV UND MC DONALD (1979) über 20 h inkubiert. Von den Futtermitteln sowie den Inkubationsresiduen wurden die TS-, XP- und AS-Gehalte nach VDLUFA (1976) ermittelt. Tryptophan wurde nach basischer Hydrolyse mittels RP-Chromatographie/Fluoreszenzdetektion bestimmt.

Zur Bewertung der Proteinqualität wurde das Produkt der Aminosäurefunktion (PAF4) nach MENKE (1987) herangezogen. Berechnungsgrundlage dieses Indexes ist das Verhältnis der essentiellen Aminosäuren des Futterproteins im Vergleich zu denen eines Referenzproteins. Der Wertebereich bewegt sich zwischen 0 und 1, wobei 1 das Optimum darstellt.

In Tabelle 55 ist die AS-Zusammensetzung und der PAF 4 der Einzelfuttermittel dargestellt.

Tabelle 55: AS-Zusammensetzung und Proteinqualität von im Mastversuch verwendeten Einzelfuttermitteln

Futtermittel	XP	Met	Cys	Lys	Thre	Try	Arg	Ile	Leu	Val	His	PAF4	PAF4
	% TS	g/16 g N										v. Ink.	n. Ink.
Gerste	9,8	1,70	2,34	3,90	3,46	1,21	4,90	3,30	6,70	4,90	2,10	0,61	0,54
Maiskleber	63,0	2,30	1,90	1,76	3,55	0,56	3,10	3,80	16,76	4,40	2,00	0,21	0,20
Kartoffelprotein	81,2	2,16	1,60	7,60	6,00	1,68	5,10	5,14	10,20	6,20	2,14	0,53	0,51
Ackerbohnen	33,4	0,60	1,20	6,10	3,40	0,86	10,5	3,80	7,20	4,16	2,40	0,67	0,65
Heu	10,7	1,75	1,20	5,45	4,56	2,01	4,76	3,90	7,66	5,16	1,80	0,68	0,69

Aus Tabelle 55 ist eine lediglich geringfügig niedrigere Proteinqualität des UDP im Inkubationsrückstand im Vergleich zum Futtermittel erkennbar. Aus diesen Ergebnissen kann abgeleitet werden, dass zur Beschreibung der AS-Zusammensetzung des UDP die des Futtermittels geeignet scheint.

Für die Kraftfuttermischungen aus dem Bilanzversuch wurde nun ausgehend von diesen Ergebnissen die AS-Zusammensetzung und der PAF 4 ermittelt. (siehe Tabelle 56).

Tabelle 56: Aminosäurezusammensetzung und PAF 4 der Futtermittel des Bilanzversuchs

Futtermittel	XP	Met	Cys	Lys	Thre	Try	Arg	Ile	Leu	Val	His	PAF4
	% TS	g/16 g N										
LL	17,4	1,71	2,34	5,86	5,54	1,98	3,03	4,68	10,77	5,05	2,03	0,66
LM	17,8	1,39	1,97	4,43	4,24	1,67	3,20	3,57	8,98	4,18	1,82	0,65
LS	17,5	1,04	1,60	3,09	3,03	0,97	3,43	2,53	7,46	3,13	1,68	0,49
SL	17,9	1,11	1,68	7,31	4,91	1,79	5,06	4,45	8,06	4,80	1,93	0,79
SM	17,9	0,82	1,45	5,89	3,75	1,39	5,24	3,56	6,42	3,83	1,76	0,79
SS	17,9	0,50	1,05	4,44	2,42	0,83	5,29	2,55	4,67	2,95	1,58	0,58
Heu	10,0	1,53	1,08	4,43	4,43	1,97	4,54	3,60	7,68	5,02	1,62	0,60

Wie aus dem PAF 4 der Kraftfuttermischungen ersichtlich, liegt die Proteinqualität der Rationen mit langsam abbaubaren Proteinträger jeweils gleichauf mit der der intermediären Rationen. Letztere wiesen jedoch im Bilanzversuch eine signifikant bis tendenziell niedrigere N-Retention auf. Deshalb liegt der Schluss nahe, dass die Aminosäurezusammensetzung des UDP nicht maßgeblich den N-Ansatz beeinflusst.

Es ist allerdings zu bemerken, dass es sich bei dem für den PAF 4 zugrundeliegenden Referenzprotein, welches die Ansprüche der Tiere an die Proteinzusammensetzung widerspiegeln soll, um ein Modell für das wachsende Schwein handelt. Demnach wird die Bedeutung der schwefelhaltigen AS für das Wollwachstum des Schafes in diesem Modell nicht berücksichtigt. Da nach STORM UND ØRSKOV (1984) das mikrobielle Protein beim Schaf an erster Stelle durch Methionin limitiert wird und sowohl das in den Bilanzversuchen verwendete Molkenprotein als auch der im Mastversuch eingesetzte Maiskleber jeweils exzellente Quellen schwefelhaltiger AS darstellen, könnte somit das Aminosäuremuster des UDP das mikrobielle Protein gut ergänzt haben. Darüber hinaus besitzen die genannten Proteinträger hohe Leucingehalte, so dass bei suboptimaler Leucinversorgungslage sich diese AS ebenfalls positiv auf das Wachstum ausgewirkt haben könnte. In diesem Zusammenhang ist anzuführen, dass bei den Mikroben im Pansen die Synthese bestimmter Aminosäuren wie Phe, Leu und Ile komplizierter zu sein scheint als bei anderen (ATASOGLU ET AL., 2004). Dementsprechend wirkt sich eine Limitierung dieser AS ebenfalls begrenzend auf die gesamte mikrobielle Proteinsynthese aus.

Ein anderer Ansatz liegt in der Energieversorgung der Tiere. Nach BLACK ET AL. (1973) ist eine maximale N-Bilanz von der Energieaufnahme abhängig. Auch SCHROEDER UND TITGEMEYER (2008) berichten von einem Einfluss der Energieversorgung auf die Effizienz der AS-Nutzung. Daraus folgern die Autoren keine konstante Effizienz der AS-Nutzung bei wachsenden Wiederkäuern.

Übertragen auf die vorliegende Arbeit wäre dann eine höhere N-Retention die Reaktion auf eine numerisch bessere ME-Versorgung bei den Rationen LL und SL. Die Beziehung zwischen umsetzbarer Energie und N-Retention auf Basis der metabolischen Lebendmasse für die Rationen der Bilanzversuche, in Tabelle 57 dargestellt, weist ein deutlich besseres  $R^2$  auf als alle in Tabelle 57 aufgeführten Faktoren der N-Versorgung. Daraus kann abgeleitet werden, dass die Lämmer das UDP nicht nur als AS-Quelle nutzen, sondern auch als Energiequelle für das Wachstum.

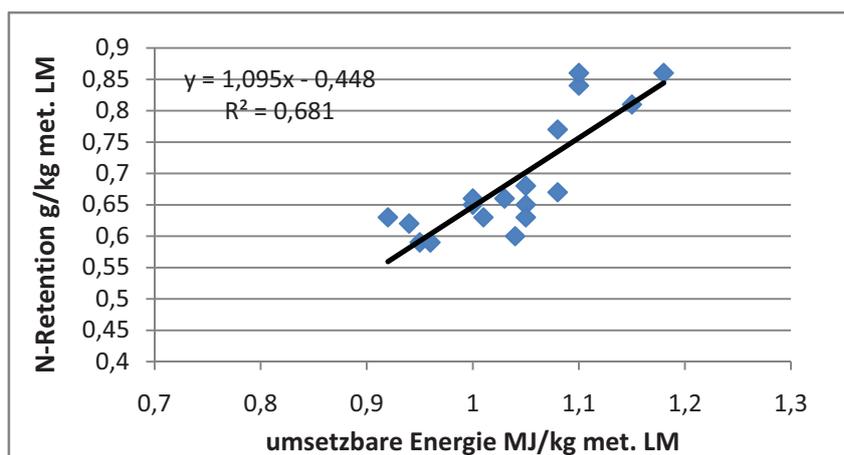
## Kapitel 5

Tab. 57: Lineare Regressionen zwischen Energieversorgung und N-Ansatz

	Lineare Regression	R <sup>2</sup>
Aufgenommene ME versus. retinierter N alle Rationen Bilanzversuche	0,974 x - 0,319	0,43
Aufgenommene ME versus. retinierter N Rationen SL, SM und SS	1,095 x - 0,448	0,68
Aufgenommene ME versus. retinierter N Rationen LL, LM und LS	0,722 x - 0,051	0,17

Bemerkenswerterweise ist die Beziehung zwischen der ME-Versorgung und dem N-Ansatz in den Rationen mit schnell abbaubaren CHO deutlich höher (siehe Tabelle 57 und Abbildung 17), was für einen Effekt der CHO-Quelle spricht. Allerdings ist anzumerken, dass die im Versuch für die Rationen SL, SM und SS verwendeten Lämmer alle aus einem Betrieb stammten, während die Lämmer der Rationen LL, LM und LS verschiedene Herkünfte aufwiesen. Demnach kann auch ein genetischer Effekt nicht ausgeschlossen werden.

Abbildung 17: Beziehung zwischen ME-Versorgung und N-Retention bei den Rationen SL, SM und SS und SS



Auch bei BEAUCHEMIN ET AL. (1995) führte eine Veränderung der Energiekonzentration der Ration zu einer Veränderung in der Wachstumsleistung der Lämmer. So reduzierte eine um 7 % verringerte verdauliche Energie die täglichen Zunahmen und verschlechterte die Futtermittelverwertung. Während BEAUCHEMIN ET AL. (1995) davon ausgehen, dass sich die Zusammensetzung des Zuwachses bei Lämmern, die mit einer energiereichen Ration gefüttert werden, verändert stellte eine Studie von THERIEZ ET AL. (1982) bei Lämmern mit zunehmender ME-Konzentration der Ration ebenfalls ein besseres Wachstum fest, wobei keine Effekte auf den Schlachtkörper nachgewiesen werden konnten.

Es sollte noch erwähnt werden, dass in der Untersuchung von BEAUCHEMIN ET AL. (1995) der Einsatz von Proteinträgern mit geringer ruminaler Abbaubarkeit in Form von Fischmehl bei

gleichzeitig energiereicher Versorgung weder einen Effekt auf das Wachstum noch auf die Futtermittelverwertung bei Lämmern besaß. Einerseits war somit in letztgenannter Studie die Energieversorgung nicht begrenzend, andererseits wurde als Vergleichsprotein zu Fischmehl (XP-Abbau 15 %) ein Rapsextraktionsschrot mit einem ruminalen XP-Abbau von 48 % verwendet. Damit bestanden wesentlich geringere Unterschiede im ruminalen Abbau der Proteinträger im Vergleich zu den im vorliegenden Mastversuch eingesetzten Protein bzw. N-Trägern (XP-Abbau Maiskleber 17 %/Kartoffelprotein 37 %/Ackerbohnen 96,8 % und Harnstoff 100 %).

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit bestand in der Untersuchung verschiedener Strategien auf ihr Potential zur Reduktion der Methanemission beim Wiederkäuer.

Jede Steigerung der tierischen Leistung durch Ernährung, Zucht oder Management vermindert generell die Methanproduktion je Einheit erzeugten Produktes (BOADI ET AL., 2004). Dementsprechend hoch ist das Potential der Leistungssteigerung im Mastversuch durch den Einsatz von Proteinträgern niedriger ruminaler Abbaubarkeit einzuschätzen. Eine Verkürzung der Mastdauer in der intensiven Lämmermast um bis zu 29 Tage je Mastperiode kann zu einer potentiellen Reduktion der Methanproduktion um 480 l je Lamm führen unter Annahme einer durchschnittlichen täglichen Methanproduktion von 16 l bei vergleichbarer Fütterung (Kapitel 3). Daraus ist ersichtlich, dass einer bedarfsgerechten Rationsgestaltung eine hohe Bedeutung auch hinsichtlich der Minderung der Methanemission zukommt.

Als eine weitere nutritive Möglichkeit der Reduzierung der Methanogenese erwies sich der Einsatz von Bypass-CHO. So konnte in dieser Arbeit durch den Austausch der schnell abbaubaren CHO-Quellen Erbsen, Stärke, Zucker gegen Mais eine Verminderung der Methanbildung um bis zu 45 % erzielt werden.

Ohne Erfolg hinsichtlich einer Methansenkung blieb das Konzept der synchronen Rationsgestaltung. Synchrone Rationen erzielten sogar eine numerisch höhere Methanproduktion, welche vermutlich auf intensivere Fermentation zurückzuführen ist.

Nicht als nutritives Konzept, aber möglicherweise ebenfalls ein hohes Potential bietet die gezielte Selektion von Tieren, die bei vergleichbarer Fütterung niedrigere Methanemissionen verursachen. So stellten sowohl BLAXTER UND CLAPPERTON (1965) als auch ULYATT ET AL. (1999) eine hohe tierspezifische Variation in der Methanproduktion fest.

Auch in den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Respirometrieversuchen konnten teilweise beträchtliche Unterschiede innerhalb einer Ration ausgemacht werden. Besonders auffällig war in diesem Zusammenhang das Tier Nummer 51, welches bei Fütterung der Ration SS eine

mittlere tägliche Methanproduktion von 6,2 l aufwies. Die übrigen Tiere der Gruppe SS produzierten täglich zwischen 16,5 und 26,6 l Methan. Das Lamm Nr. 51 war gesund. Nun besteht nach MOLANO UND CLARK (2008) ein enger Zusammenhang zwischen Methanproduktion und täglicher Trockenmasseaufnahme. Das Lamm Nr. 51 verzeichnete mit 1012 g je Tag allerdings eine fast identische TM-Aufnahme im Vergleich zu Lamm Nr. 52 mit 1013 g. Letzteres produzierte jedoch mit 27 l mehr als viermal so viel Methan. Der Unterschied zwischen diesen beiden Lämmern bestand in der Geschwindigkeit der Futteraufnahme. Lamm Nr. 51 nahm in kürzester Zeit von nur etwa 30 Minuten seine gesamten morgendlichen bzw. abendlichen Rationshälften auf, während die übrigen Tiere deutlich längere Zeit zur Futteraufnahme benötigten.

Inwieweit diese Beobachtungen durch einen geringeren Anteil des Verdauungstraktes im Verhältnis zum Gesamttier bedingt sind oder einem genetischen Einfluss unterliegen, ist in der vorliegenden Studie nicht nachvollziehbar. Jedoch sind zur genetischen Differenzierung von Tieren hinsichtlich ihrer Methanproduktion in jüngerer Zeit mehrere Studien durchgeführt worden (HEGARTY, 2004; GOOPY UND HEGARTY, 2004; ALFORD ET AL., 2006).

## 5.1 Literaturverzeichnis

**ALFORD, A.R., R.S. HEGARTY, P.F. PARNELL, O.J. CACHO, R.M. HERD UND G.R. GRIFFITH (2006)**

The impact of breeding to reduce residual feed intake on enteric methane emissions from the Australian beef industry, *Austr. J. Exp. Agric.* 46, 813-826

**ALLEN, S.A. UND E.L. MILLER (1976)**

Determination of nitrogen requirement for microbial growth from the effect of urea supplementation of a low nitrogen diet on abomasal nitrogen flow and nitrogen recycling in wethers and lambs, *Br. J. Nutr.* 36, 353-368

**ATASOGLU, C., A.Y. GULIYE UND R.J. WALLACE (2004)**

Use of stable isotopes to measure de novo synthesis and turnover of amino acid-C and -N in mixed micro-organisms from the sheep rumen in vitro, *Br. J. Nutr.* 91, 253-261

**BEAUCHEMIN, K.A., L.A. MCCLELLAND, S.D.M. JONES UND G.C. KOZUB (1995)**

Effects of crude protein content, protein degradability and energy concentration of the diet on growth and carcass characteristics of market lambs fed high concentrate diets, *Can. J. Anim. Sci.* 75, 387-395

**BEEVER, D.E. UND B.R. COTTRILL (1993)**

Protein systems for feeding ruminant livestock: a European assessment, *J. Dairy Sci.* 77, 2031-2043

**BLACK, J.L., G.R. PEARCE UND D.E. TRIBE (1973)**

Protein requirements of growing lambs, *Br. J. Nutr.* 30, 45-60

**BLAXTER, K.L. UND J. L. CLAPPERTON (1965)**

Prediction of the amount of methane produced by ruminants, *Br. J. Nutr.* 19, 511-522

**BOADI, D., C. BENCHAAAR, J. CHIQUETTE UND D. MASSÉ (2004)**

Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review, *Can. J. Anim. Sci.* 84, 319-335

**BRODERICK, G.A. UND J.E. BALTHROP (1979)**

Chemical inhibition of amino acid deamination by ruminal microbes in vitro, *J. Anim. Sci.* 49, 1101-1111

**CHALUPA, W. (1976)**

Degradation of amino acids by the mixed rumen microbial population, *J. Anim. Sci.* 43, 828-834

**CHEN, X.B., Y.K. CHEN, M.F. FRANKLIN, E.R. ØRSKOV UND W.J. SHAND (1992)**

The effect of food intake and body weight on purine derivative excretion and microbial protein supply in sheep, *J. Anim. Sci.* 70, 1534-1542

**GANEV, G., E.R. ØRSKOV UND R. SMART (1979)**

The effect of roughage or concentrate feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen, *J. Agric. Sci. (Camb)* 93, 651-656

**GfE (2001)**

Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, DLG-Verlag Frankfurt am Main

**GOOPY, J.P. UND R.S. HEGARTY (2004)**

Repeatability of methane production in cattle fed concentrate and forage diets, *J. Anim. Feed Sci.* 13 (Suppl.), 75-78

**HEGARTY, R.S. (2004)**

Genotype differences and their impact on digestive tract function of ruminants: a review, *Aust. J. Exp. Agric.* 44, 459-467

**HOLDER, P., P.J. BUTTERY UND P.C. GARNSWORTY (1995)**

The effect of diet asynchrony on rumen nitrogen recycling in sheep, *Anim. Sci.* 60, 528

**KIRCHGESSNER, M., W. WINDISCH UND H.L. MÜLLER (1994)**

Methane release from dairy cows and pigs, in: *Energy metabolism in farm animals*, EAAP Publication 76, 399-402

**LINDBERG, J.E., A. BRISTOV UND A.R. MANYENGA (1989)**

Excretion of purines in the urine of sheep in relation to duodenal flow of microbial protein, *Swed. J. Agric. Res.* 19, 45-52

**MAKKAR, H.P.S. (2004)**

Development, standardization and validation of nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity, in: *Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives*, Hrsg.: H.P.S. Makkar und X.B.Chen, Kluwer academic publishers, Netherlands

**MENKE, K.-H. (1987)**

in *Tierernährung und Futtermittelkunde*, Hrsg.: K.-H. Menke und W. Huss, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

**MERCHEN, N.R. UND E.C. TITGEMEYER (1992)**

Manipulation of amino acid supply to the growing ruminant, *J. Anim. Sci.* 70, 3238-3247

**MOLANO, C. UND H. CLARK (2008)**

The effect of level of intake and forage quality on methane production by sheep, *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 219-222

**NOLAN, J.V. UND R.C. DOBOS (2005)**

Nitrogen transactions in ruminants, in: *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, 2nd edition, Hrsg.: J. Dijkstra, J.M. Forbes und J. France, CAB International

**ØRSKOV, E.R. UND I. McDONALD (1979)**

The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage, *J. Agric. Sci. Camb.* 92, 499-503

**ØRSKOV, E.R. UND E.L. MILLER (1988)**

Protein evaluation in ruminants, in: *Feed Science*, Hrsg: E.R. Ørskov, Elsevier Science Publishers LTD

**ØRSKOV, E.R., C. FRASER UND I. McDONALD (1972)**

Digestion of concentrates in sheep, 4. The effects of urea on digestion, nitrogen retention and growth in young lambs, *Br. J. Nutr.* 27, 491-501

**ØRSKOV, E.R., C. FRASER, I. McDONALD UND R.I. SMART (1974)**

Digestion of concentrates in sheep, 5. The effect of adding fish meal and urea together to cereal diets on protein digestion and utilization by young sheep, *Br. J. Nutr.* 31, 89-98

**SCHROEDER, G.F. UND E.C. TITGEMEYER (2008)**

Interaction between protein and energy supply on protein utilization in growing cattle: A review, *Livestock Sci.* 114, 1-10

**SCOLLAN, N.D., E.J. KIM, M.S. DHANOA, J.M. GOODEN, M.A. NEVILLE, R.T. EVANS, J.M. DAWSON UND P.J. BUTTERY (1997)**

The effect of diet asynchrony on portal-drained viscera metabolism, *Proc. Br. Soc. Anim. Sci.* 1

**SHINGFIELD, K. (2000)**

Estimation of microbial protein supply in ruminant animals based on renal and mammary purine metabolite excretion. A review, *J. Anim. Feed Sci.* 9, 169-212

**SIDDONS, R.C., D.E. BEEVER UND J.V. NOLAN (1982)**

A comparison of methods for the estimation of microbial nitrogen in the duodenal digesta of sheep, *Br. J. Nutr.* 48, 377-389

- SINCLAIR, L.A., P.C. GARNSWORTHY, J.R. NEWBOLD UND P.J. BUTTERY (1993)**  
Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep,  
J. Agric. Sci. (Camb), 120, 251-263
- SINCLAIR, L.A., P.C. GARNSWORTHY, J.R. NEWBOLD UND P.J. BUTTERY (1995)**  
Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release in diets with a similar carbohydrate composition on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep, J. Agric. Sci. Camb. 124, 463-473
- STEINGAB, H., C. ZIEBART UND W. DROCHNER (2003)**  
Einfluss der Proteinversorgung auf Wachstum und N-Umsatz bei Mastlämmern,  
115. VDLUFA Kongress Saarbrücken, Kurzfassungen der Referate, 112-113
- STORM, E. UND E.R. ØRSKOV (1984)**  
The nutritive value of rumen microorganisms in ruminants, 4. The limiting amino acids of microbial protein in growing sheep determined by a new approach,  
Br. J. Nutr. 52, 613-620
- THERIEZ, M., Y. VILLETTE UND C. CASTRILLO (1982)**  
Influence of metabolizable energy content of the diet and of feeding level on lamb performances, I. Growth and body composition, Livestock Prod. Sci. 9, 471-485
- ULYATT, M.J., S.K. BAKER, G.J. MCCRABB UND K.R. LASSEY (1999)**  
Accuracy of SF<sub>6</sub> tracer technology and alternatives for field measurements,  
Austr. J. Agric. Res. 50, 1329-1334
- VDLUFA (1976) INKLUSIVE ERGÄNZUNGLIEFERUNGEN 1983, 1988, 1993, 1997**  
Methodenbuch Band III – Die chemische Untersuchung von Futtermitteln.  
VDLUFA Verlag, Darmstadt
- VOLDEN, H. (1999)**  
Protein metabolism in the gastro-intestinal tract of lactating dairy cows,  
Dissertation, Universität As, Norwegen

---

# Kapitel 6

---

## SUMMARY

### Summary

This study focuses on the evaluation of different modifications of N-supply regarding N-source, N-amount, ruminal N-degradability and amino acid composition of the UDP (undegraded crude protein) on the efficiency of N-utilization and their potential to reduce N- and methane emission.

The N-requirement of ruminal methanogenic archaea in literature is not well defined. Therefore an *in vitro* study was carried out to scrutinize the possibility of reducing ruminal methane emission by reducing N-supply without affecting total fermentation. In addition different N-sources were chosen to investigate possible preferences in N-usage of methanogens.

For the *in vitro* measurements Hohenheim gas test method was performed with the carbohydrates (CHO) starch and cellulose combined with the N-sources casein and  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ . The supplementation of N was made in four levels with 0,1,68/3,37 and 6,74 mg per incubation vessel. Simultaneously the proportion of rumen fluid and medium was varied (2:1/5:1/11:1) to receive a wide spectrum of N-levels. After 24 hours incubation gas and methane production were determined.

CHO-, N-source and N-amount exhibited a significant effect on gas and methane production. Overall both gas and methane production are correlated with the term available N, which is defined as the supplemented N-sources plus  $\text{NH}_3\text{-N}$  of the blank after 24 h of incubation. All CHO/N- combinations approached a plateau of maximal production performance with increasing N-level. The break point of the plateau corresponds to the minimal N-requirement for an optimal fermentation and methanogenesis respectively. Determination of the break point was carried out by fitting a segmented quadratic function. The minimal methanogenic N-requirement of the combinations Cell-NPN, starch-NPN and starch-casein ranks clearly below as for total gas production. For the combination Cell-Cas, minimal N-requirement for gas and methane production is comparable. To draw a conclusion, reduction of N-quantity leads primarily to a depression of digestibility (gas production) rather than of methane production. Thus decreasing N-supply seems not be an adequate strategy to reduce methane emissions.

Mostly microbial protein contributes as main source of the available protein at the duodenum. For the efficiency of microbial protein synthesis besides the amount and quality of CHO and N-sources their synchronized (simultaneous) ruminal availability plays an important role. In this study synchronized diets were performed in order to survey their possibility to reduce N-excretions and methane production as a result of improved N-supply.

## Kapitel 6

---

In C/N balance trials and respiration studies 36 lambs (25 kg average body weight) each group out of six were fed with diets based on the CHO-sources maize and peas-starch-sugar respectively and the protein supplements whey, lupins and urea. Modified Hohenheim gas test was used to synchronize the diets according to ruminal carbohydrate degradation rate by combination with protein supplement mixture of simultaneous N-release. Cross-over change of the protein mixtures with the other carbohydrate source leads to asynchronous diets.

In this study synchronized diets showed neither benefits on microbial protein synthesis nor an improved N-retention. In contrast protein mixtures with lowest ruminal degradability irrespective the carbohydrate source achieved highest N-retention (0,74 and 0,76 g/kg met. LW respectively) and least N-excretion. From this it is assumed, that slow protein degradation rates supply additional amino acids postruminal whereby N-retention will be improved.

In energy balance synchronizing diets in lambs improved energy supply due to a higher efficiency of ME based on higher fat retention.

Generally methane production of lambs with 11,4-20,3 l per animal and day and 3,3-5,9 % DE respectively was on a very low level. Supplementation of slowly degradable CHO sources with high CHO-bypass could reduce methane production up to 45 % than diets based on fast degradable carbohydrates. Slowly degradable protein sources did not contribute to the reduction of methane production.

Asynchronous diets led to numerical lower methane emission than synchronized diets particularly in diets based on fast CHO degradation rates. Therefore synchronizing diets is not considered as an adequate strategy to reduce methane production, related to digestible energy level.

In particular for animals on high production level contribution of UDP and protein bypass respectively is important in order to meet amino acid requirement. Thus this study was conducted to investigate the influence of degradability and amino acid composition of four protein and N-supplements, respectively on parameters of fattening and slaughter performance.

Each of twenty male and female lambs of the merino breed (24 kg average LW) was fed a diet composed of 25 % hay and 75 % concentrate. The concentrate was based on barley complemented by the N-sources with decreasing contents of UDP (maize gluten meal > potato protein > field beans > urea) and animals had ad libitum access.

Increasing bypass protein enhanced significantly average daily gain (347 g/310 g/ 281 g/ 209g), with respective significant differences in length of fattening period up to one month between best and worst group. In addition feed conversion was improved in diets high in protein bypass.

Likewise ruminal degradability induced no impacts on parameters of slaughter performance and nutrient composition of *M. longissimus dorsi*.

Protein quality of UDP remained without effects on fattening and slaughter performance. Hence it is reasoned, that lambs utilized UDP not only as an amino acid source but also as an additional energy source for growth.

The performance-enhancing effect of increasing protein bypass in diets offers a high potential to decrease N- and methane emissions per animal and can be realized comparatively easy in common agricultural practice.

---

# Kapitel 7

---

## ZUSAMMENFASSUNG

### Zusammenfassung

Schwerpunkte dieser Arbeit liegen in der Überprüfung nutritiver Modifikationen der N-Versorgung hinsichtlich N-Quelle, N-Menge, Abbaubarkeit des N im Pansen sowie der Aminosäurezusammensetzung des unabgebauten Rohproteins (UDP) auf die Effizienz der N-Nutzung, sowie deren Potential zur Reduktion von N- und Methanemission.

Der N-Bedarf der methanogenen Archaea im Pansen ist bislang lediglich ansatzweise in der Literatur beschrieben. Deshalb sollte in einer in vitro Untersuchung überprüft werden, ob durch eine Reduktion der N-Zufuhr im Pansen die Möglichkeit besteht, die Methanproduktion zu senken, ohne die übrige Fermentationsleistung zu beeinträchtigen. Des Weiteren sollten durch Verwendung verschiedener N-Quellen mögliche Präferenzen der Methanbildner bei der N-Nutzung untersucht werden.

Mit der in vitro Methode des Hohenheimer Futterwerttests (siehe Kapitel 2.2.2) wurden die Kohlenhydrate (CHO) Stärke und Cellulose (Cell) mit den N-Quellen Casein (Cas) und  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (NPN) inkubiert. Die N-Zulage umfasste vier Stufen mit 0/1,68/3,37 und 6,74 mg N je Kolbenprober. Gleichzeitig erfolgte eine Variation des Verhältnisses Pufferlösung zu Pansensaft (2:1/5:1/11:1) um ein noch breiteres N-Spektrum zu induzieren. Nach 24 h Inkubation wurden die Gas- und Methanbildung ermittelt.

CHO- und N-Quelle sowie N-Menge übten einen signifikanten Effekt auf Gas- und Methanbildung aus. Insgesamt korrelierten sowohl die Gas- als auch die Methanproduktion mit der Menge an verfügbarem N, der als N-Zulage plus  $\text{NH}_3\text{-N}$  des Pansensaftblindwerts nach 24 h definiert wurde. So erreichten alle CHO/N-Kombinationen mit zunehmender N-Zufuhr ein Plateau der maximalen Produktionsleistung. Der Übergang zu diesem Plateau entspricht dem minimalen N-Bedarf für eine optimale Fermentation bzw. Methanogenese und wurde durch das Anlegen einer segmentierten quadratischen Funktion ermittelt. Der minimale N-Bedarf für die Methanbildner fiel bei den Kombinationen Cell-NPN, Stärke-NPN und Stärke-Casein deutlich niedriger aus als für die Gasbildung, bei der Kombination Cell-Cas lag der minimale N-Bedarf gleichauf. Daraus lässt sich schließen, dass mit einer Verringerung der N-Zufuhr zunächst eine Depression der Verdaulichkeit (Gasbildung) einhergeht und erst später mit einer Depression der Methanogenese zu rechnen ist. Deshalb kann eine Verminderung der N-Zufuhr im Pansen nicht als eine adäquate Maßnahme zur Reduzierung der Methanemission empfohlen werden.

Das mikrobielle Protein stellt meist die Hauptquelle des nutzbaren Rohproteins am Duodenum dar. Für die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese spielt neben der Menge und Qualität der

CHO- und N-Quellen auch deren gleichzeitige (synchrone) Verfügbarkeit im Pansen eine wichtige Rolle. Mittels einer synchronen Rationsgestaltung sollte in dieser Arbeit überprüft werden, ob sowohl die N-Ausscheidungen als auch die Methanproduktion infolge einer verbesserten N-Versorgung gesenkt werden können.

In C/N-Bilanz- und Respirationsversuchen wurden an 36 Lämmer (mittlere LM 25 kg), unterteilt in sechs Gruppen Futterrationen auf Basis der CHO-Quelle Mais (niedrige Abbaurate) bzw. Erbse-Stärke-Zucker (hohe Abbaurate) und der Proteinträger Molkenprotein, Lupine und Harnstoff verabreicht. Mit dem modifizierten Hohenheimer Futterwerttest wurde eine synchrone N-Freisetzung der Proteinträgermischung entsprechend dem ruminalen Abbau der CHO-Mischung ermittelt. Ein Überkreuzaustausch der Proteinmischungen mit dem jeweils anderen CHO-Träger, ergab die asynchronen Rationen.

Die synchrone Rationsgestaltung führte weder zu einer erhöhten mikrobiellen Proteinsynthese noch zu einer verbesserten N-Retention. Dagegen erreichte die Proteinmischung mit der geringsten ruminalen Abbaurate unabhängig von der CHO-Quelle jeweils die höchste N-Retention (0,74 bzw. 0,76 g/kg met. LM) und damit die geringste N-Ausscheidung. Anzunehmen ist, dass bei langsamer Abbaurate der Proteinquelle postruminal zusätzlich Aminosäuren (AS) zur Verfügung stehen, wodurch der N-Ansatz verbessert wird.

In der Energiebilanz bewirkte die Synchronisierung eine Verbesserung der Energieversorgung der Lämmer infolge einer höheren Verwertung der ME, welche auf einem höheren Fettansatz beruhte.

Die Methanproduktion der Lämmer befand sich mit 11,4-20,3 l je Tier und Tag bzw. 3,3-5,9 % der verdaulichen Energie auf einem sehr niedrigen Niveau. Langsam abbaubare CHO-Quellen mit einem hohen CHO-Bypass senkten die Methanproduktion um bis zu 45 % gegenüber Rationen mit schneller CHO-Abbaugeschwindigkeit, während langsam abbaubare Proteinquellen keine Absenkung der Methanproduktion erbrachten.

Asynchrone Rationen führten numerisch zu geringeren Methanemissionen als synchrone Rationen, vor allem bei den auf CHO mit schneller Abbaurate basierenden Rationen. Ausgehend von diesen Ergebnissen ist eine synchrone Rationsgestaltung nicht zur Reduzierung der Methanproduktion bezogen auf die Ebene der verdaulichen Energie geeignet.

Insbesondere für Tiere mit einem hohen Leistungsniveau ist der Beitrag des UDP bzw. des Proteinbypass zur Deckung des AS-Bedarfs wichtig. Deshalb sollte in dieser Arbeit an wachsenden Lämmern der Einfluss der Abbaubarkeit und AS-Zusammensetzung von vier Protein- bzw. N-Trägern auf Parameter der Mast- und Schlachtleistung untersucht werden.

Jeweils 20 männliche und 20 weibliche Lämmer der Rasse Merinolandschaf (mittlere LM 24 kg) erhielten eine Futterr ration bestehend aus 25 % Heu und 75 % Kraftfutter. Das Kraftfutter basierte auf Gerste, ergänzt durch N-Träger mit abnehmenden Gehalten an UDP (Maiskleber > Kartoffelprotein > Ackerbohnen > Harnstoff) und stand den Tieren ad libitum zur Verfügung.

Ein verringerter Bypassanteil wirkte sich leistungsmindernd in Form von signifikant niedrigeren täglichen Zunahmen aus (347g/310 g/281g/209 g), woraus ebenfalls signifikante Unterschiede in der Mastdauer von bis zu einem Monat zwischen bester und schlechtester Gruppe resultierten.

Auch die Futtermittelerwertung war bei Rationen mit niedrigem Proteinbypass verschlechtert. Darüber hinaus konnten keine signifikanten Einflüsse der N-Träger auf Parameter der Schlachtleistung sowie auf die Nährstoffzusammensetzung des *M. longissimus dorsi* beobachtet werden.

Die Proteinqualität des UDP blieb ohne signifikante Auswirkungen auf Mast- und Schlachtleistung. Daraus wird geschlossen, dass die Lämmer das UDP nicht nur als AS-Quelle verwendeten sondern auch als zusätzliche Energiequelle für das Wachstum.

Der leistungssteigernde Effekt eines höheren Bypassproteinanteils in der Ration besitzt ein hohes Potential zur Senkung der N- und Methanausscheidungen je Tier und kann vergleichsweise einfach in die landwirtschaftliche Praxis umgesetzt werden.

---

# Kapitel 8

---

DANKSAGUNG

### **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Drs. Drs. h.c. W. Drochner für die Überlassung des Promotionsthemas, seine Anleitung und Inspiration sowie für das entgegengebrachte Vertrauen und das angenehme und konstruktive Arbeitsklima am Institut für Tierernährung.

Herrn Dr. H. Steingaß gebührt mein ganz besonderer Dank für seine stets offene Tür. Seine Gesprächs- und Diskussionsbereitschaft sowie seine Unterstützung und Motivation in allen Phasen der Arbeit haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Univ.-Doz. Dr. L. Gruber für die Zweitberichterstattung sowie bei Herrn Prof. Dr. M. A. Grashorn für die Übernahme des Drittprüfers in der mündlichen Prüfung bedanken.

Für die Unterstützung bei den statistischen Auswertungen und Fragestellungen gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. H.-P. Piepho, Herrn Prof. Dr. M. Tafaj sowie Herrn A. Hoffmann.

Außerdem möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts für Tierernährung ein herzliches Dankeschön für die Übernahme der Laboranalysen sowie für ihre Unterstützung und Hilfsbereitschaft aussprechen. Gleichfalls danke ich den Mitarbeitern des Stallteams des Instituts für Tierernährung sowie des Oberen Lindenhofs für die Tierbetreuung in den Bilanz- und Respirationsversuchen sowie im Mast- und Schlachtversuch.

Bei Herrn Prof. Dr. A. Fischer möchte ich mich für die freundliche Aufnahme in seinem Institut und die Möglichkeit zur Nutzung der Gerätschaften für die Parameter der Fleischbeschaffenheit bedanken.

Frau S. Remppis danke ich für die Mitarbeit im Labor und Herrn M. Dengler für sein Engagement bei der Durchführung des Lämmermastversuches.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft gilt mein besonderer Dank für die finanzielle Unterstützung der Untersuchungen im Rahmen des Graduiertenkollegs Klimarelevante Gase. Für die Aufnahme ins Graduiertenkolleg, die exzellente Betreuung und die angenehme Atmosphäre

## Kapitel 8

---

sowie für die eindrucksvolle Exkursion nach China möchte ich mich insbesondere bei Herrn Prof. Dr. Drs. h.c. J. Zeddies und Frau A. Bardoll bedanken.

Mein ganz persönlicher Dank richtet sich an meine Eltern für ihre Unterstützung und Motivation in all den Jahren und auch an Daniel, dessen Verständnis und Geduld ein starker Rückhalt für mich waren. Außerdem möchte ich Daniel von Herzen für seine stetige Bereitschaft zur Diskussion der Versuchsergebnisse hinsichtlich ihrer Umsetzungsmöglichkeit in die praktische Landwirtschaft danken.

### LEBENS LAUF

#### Zur Person

Patricia Alexandra Leberl

geboren am 23.09.1975

in Mutlangen

Familienstand ledig

Staatsangehörigkeit deutsch

#### Schulbildung

1986-1995 Scheffold-Gymnasium in Schwäbisch Gmünd  
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

#### Studium

10/1996-7/2001 Studium der Allgemeinen Agrarwissenschaften mit  
Vertiefungsrichtung Tierproduktion an der Universität Hohenheim  
Abschluss: Diplom-Agraringenieurin

#### Promotion

01/2002-11/2004 Stipendiatin der Deutschen Forschungsgemeinschaft im  
Rahmen des Graduiertenkollegs „Klimarelevante Gase“  
Thema der Dissertation: Einfluss verschiedener Faktoren der  
Stickstoffversorgung auf den Stickstoff- und Energieumsatz  
sowie die Methanproduktion beim Wiederkäuer

#### Berufstätigkeit

03/2002-11/2004 Geprüfte Wissenschaftliche Hilfskraft  
am Institut für Tierernährung der Universität Hohenheim  
seit 12/2004 Akademische Mitarbeiterin an der Landesanstalt für  
landwirtschaftliche Chemie der Universität Hohenheim,  
Fachgebiet Wirtschaftseigene Futtermittel

Stuttgart-Hohenheim, den 14.04.2009



