

**Aus dem Institut für Tierernährung  
der Tierärztlichen Hochschule Hannover und dem Institut für Tierernährung der  
Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig**

---

**Einfluss der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB)  
auf die Pansenfermentation, mikrobielle Proteinsynthese,  
Menge des am Dünndarm  
anflutenden nutzbaren Proteins (nXP)  
sowie die Stickstoffausscheidung**

**INAUGURAL – DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades  
einer Doktorin der Veterinärmedizin  
(Dr. med. vet.)  
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover**

**Vorgelegt von  
Andrea Riemeier (geb. Bültemann)  
aus Wernigerode**

**Hannover 2004**

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.-Prof. Dr. med. vet. J.Kamphues (TiHo)  
Univ.-Prof. Dr. agr. G. Flachowsky (FAL)

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. J.Kamphues (TiHo)
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. J.Rehage (TiHo)

Tag der mündlichen Prüfung: 19.11.2004

Die vorliegende Arbeit wurde von der H. WILHELM SCHAUMANN-Stiftung gefördert.

***Für meine Familie***



## **Wissenschaftliche Veröffentlichungen**

**RIEMEIER, A., LEBZIEN, P., FLACHOWSKY, G. (2003).**

Influence of the ruminale N-balance on rumen fermentation, microbial protein synthesis, amount of utilisable crude protein and N-excretion.

EAAP publ. No. 109, Rostock-warnemünde, 645-647.

**RIEMEIER, A., LEBZIEN, P., FLACHOWSKY, G. (2004).**

Influence of the Ruminale Nitrogen-Balance (RNB) on rumen fermentation, microbial protein synthesis, amount of utilisable crude protein and milk urea.

Proc. Soc. Nutr. Physiol. 13. 36.

**RIEMEIER, A., LEBZIEN, P., FLACHOWSKY, G., KAMPHUES, J. (2004).**

Einfluss der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB) auf Pansenfermentation, mikrobielle Proteinsynthese, nXP-Menge und Stickstoffausscheidung.

Forum der angewandten Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda. 33-37.

**RIEMEIER, A., LEBZIEN, P., FLACHOWSKY, G. (2004).**

Influence of the ruminal N-balance on rumen metabolism.

J. Anim. Feed Sci. 13 (Suppl. 1). in press.



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1.</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT UND ABLEITUNG DER AUFGABENSTELLUNG</b>	<b>3</b>
<b>2.1.</b>	<b>Aufgaben und Bedeutung des Pansens</b>	<b>3</b>
<b>2.2.</b>	<b>Die Pansenmikroorganismen</b>	<b>4</b>
<b>2.3.</b>	<b>Pansenmetabolismus</b>	<b>6</b>
2.3.1.	Kohlenhydratabbau	6
2.3.1.1.	<i>Ruminaler Abbau der Nicht-Strukturkohlenhydrate</i>	6
2.3.1.2.	<i>Ruminaler Abbau von Strukturkohlenhydraten</i>	8
2.3.2.	Proteinumsatz	9
2.3.2.1.	<i>Proteinabbau</i>	9
2.3.2.2.	<i>Mikrobielle Proteinsynthese</i>	14
2.3.2.3.	<i>Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese</i>	20
2.3.2.4.	<i>Größen für den Stickstoff-Bedarf der Pansenmikroorganismen</i>	22
<b>2.4.</b>	<b>Intermediärer N-Metabolismus und N-Exkretion</b>	<b>23</b>
<b>2.5.</b>	<b>Ableitung der Aufgabenstellung</b>	<b>29</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>31</b>
<b>3.1.</b>	<b>Fütterungsversuch an fistulierten Milchkühen</b>	<b>31</b>
3.1.1.	Versuchsaufbau	31

3.1.2. Versuchstiere, Haltung und Fütterung	33
3.1.3. Blutanalysen zur Beurteilung der Stoffwechselsituation	36
3.1.4. Beschreibung der Methoden	37
3.1.4.1. <i>Pansenphysiologische Parameter</i>	37
3.1.4.2. <i>Untersuchungen zum Nährstofffluss am Duodenum</i>	38
3.1.4.2.1. Herstellung und Verabreichung des Chrommarkers	38
3.1.4.2.2. Gewinnung und Aufbereitung der Chymusproben	38
3.1.4.3. <i>Gewinnung und Bearbeitung der Milchproben</i>	39
3.1.4.4. <i>Gewinnung und Bearbeitung der Blutproben</i>	40
3.1.4.5. <i>Gewinnung und Bearbeitung der Kot- und Harnproben</i>	40
<b>3.2. Chemische Analysemethoden</b>	<b>41</b>
3.2.1. WEENDER Rohnährstoffanalytik sowie Bestimmung von NDF und Bestimmung des Schwefelgehaltes	41
3.2.2. Bestimmung des pH-Wertes im Pansensaft und Duodenalchymus	42
3.2.3. Bestimmung von Ammoniak-Stickstoff im Pansensaft und Duodenalchymus	42
3.2.4. Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft	42
3.2.5. Bestimmung des Stickstoffgehaltes im Duodenalchymus	43
3.2.6. Bestimmung der Chromkonzentration im Duodenalchymus	43
3.2.7. Bestimmung des mikrobiellen Rohproteinanteils im Duodenalchymus	44
3.2.8. Bestimmung der Milchinhaltsstoffe	44
3.2.9. Bestimmung der Blutparameter	45
3.2.10. Bestimmung des N-Gehaltes in den Harn- und Kotproben	46
<b>3.3. Mathematische Auswertung</b>	<b>47</b>
3.3.1. Angewandte Formeln	47
3.3.2. Statistische Auswertung	47

<b>4.</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>49</b>
<b>4.1.</b>	<b>Versuchsverlauf</b>	<b>49</b>
<b>4.2.</b>	<b>Zusammensetzung der verabreichten Futtermittel</b>	<b>50</b>
4.2.1.	Rohnährstoffgehalte der Maissilage	50
4.2.2.	Rohnährstoffgehalte der Kraftfuttermischungen	51
<b>4.3.</b>	<b>Futterraufnahme</b>	<b>52</b>
<b>4.4.</b>	<b>Entwicklung der Körpermasse und Leistung der Milchkühe</b>	<b>53</b>
<b>4.5.</b>	<b>Pansenphysiologische Untersuchungen</b>	<b>57</b>
4.5.1.	pH-Werte	57
4.5.2.	NH <sub>3</sub> -N-Konzentrationen	58
4.5.3.	Konzentrationen an flüchtigen Fettsäuren	59
<b>4.6.</b>	<b>Untersuchungen im Darmchymus</b>	<b>61</b>
4.6.1.	Ammoniak-N-Konzentration	61
4.6.2.	Fluss an Trockensubstanz und organischer Substanz	62
4.6.3.	Stickstofffluss am Duodenum	64
4.6.4.	Mikrobielle Proteinsynthese und Futterproteinabbau	65
4.6.5.	Vergleichende Betrachtung der „geplanten“, „analysierten“ und „tatsächlichen“ ruminalen Stickstoffbilanz (RNB)	68
<b>4.7.</b>	<b>Parameter der N-Ausscheidung</b>	<b>69</b>
4.7.1.	Blut- und Milchharnstoff	69
4.7.2.	Abschätzung der Kot- und Harn-N-Ausscheidung	70
<b>4.8.</b>	<b>Serumkonzentrationen ausgewählter Leberparameter</b>	<b>71</b>

<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>73</b>
<b>5.1.</b>	<b>Milchleistung und Milchinhaltsstoffe</b>	<b>73</b>
<b>5.2.</b>	<b>pH-Werte und flüchtige Fettsäuren im Pansensaft</b>	<b>75</b>
<b>5.3.</b>	<b>Ammoniak-N-Konzentration im Pansensaft und Duodenalchymus</b>	<b>77</b>
<b>5.4.</b>	<b>Stickstofffluss am Duodenum</b>	<b>83</b>
<b>5.5.</b>	<b>Mikrobielle Proteinsynthese und Futterproteinabbau</b>	<b>86</b>
<b>5.6.</b>	<b>Blut- und Milchwurstoff</b>	<b>93</b>
<b>5.7.</b>	<b>Harn- und Kot-Stickstoff-Ausscheidung</b>	<b>103</b>
<b>5.8.</b>	<b>Parameter des Leberstoffwechsels</b>	<b>107</b>
<b>6.</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>110</b>
<b>7.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>112</b>
<b>8.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>115</b>
<b>9.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>118</b>
<b>10.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>149</b>

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Literaturangaben zur Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese	18
Tabelle 2:	Marker zur Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese	21
Tabelle 3:	Einflussfaktoren auf den Milchharnstoffgehalt	26
Tabelle 4:	Verteilungsschema der fistulierten Milchkühe innerhalb der Fütterungsgruppen	32
Tabelle 5:	Tägliche Milchleistung und Milchinhaltsstoffe der Milchkühe zu Versuchsbeginn	34
Tabelle 6:	Zusammensetzung der Kraffttermischungen	35
Tabelle 7:	Rohnährstoffe der eingesetzten Maissilagen in den vier Versuchsperioden	50
Tabelle 8:	Energie- und Rohnährstoffgehalte und Trockensubstanzgehalte der eingesetzten Kraffttermischungen	51
Tabelle 9:	Mittlere Trockensubstanzvorlage in den einzelnen Versuchsperioden (Tiere aller Gruppen, ohne Korrektur um Rückwaagen)	52
Tabelle 10:	Mittlere tägliche Trockensubstanz- und Rohnähr-	

	stoffaufnahmen (kg) der Tiere in den einzelnen Behandlungen	53
Tabelle 11:	Aus den Futterraufnahmen, den Analysen und DLG-Futterwerttabellen (1997) ermittelten täglichen Aufnahme an NEL, ME und nXP sowie die ruminale Stickstoffbilanz (RNB) der Milchkühe und das N:S-Verhältnis	55
Tabelle 12:	Tägliche Milchleistung und Milchinhaltsstoffe bei unterschiedlicher RNB	56
Tabelle 13:	Gesamtfettsäurenkonzentration sowie molare Anteile der einzelnen flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft drei Stundennach Beginn der Morgenfütterung (n=4)	60
Tabelle 14:	Mittlere Fluss und scheinbare ruminale Verdaulichkeit der Trockensubstanz und organischen Substanz am proximalen Duodenum (MW $\pm$ SD)	63
Tabelle 15:	Übersicht über den Fluss an Gesamt-Stickstoff und Nicht-Ammoniak-Stickstoff (NAN) am Duodenum bei Fütterung mit unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz (RNB)	64
Tabelle 16:	Angaben zur Menge an fermentierter organischer Substanz (FOM), zum nutzbaren Rohprotein (nXP) und Futterproteinabbau (UDP) sowie zur mikrobiellen Proteinsynthese (MP), Menge an endogenem Protein	

	und zur „geflossenen“ RNB (anhand der tatsächlichen nXP-Flüsse berechnet, s. 4.6.5.)	66
Tabelle 17:	„Geplante“, „analyisierte“ und „geflossene“ ruminale Stickstoffbilanz (RNB)	69
Tabelle 18:	Serumkonzentrationen an Glutamatdehydrogenase (GLDH), Aspartat-Amino-Transferase (AST), $\gamma$ -Glutamatdehydrogenase (GGT), Cholesterin (CHOL) und Gesamtbilirubin (GB)	72
Tabelle 19:	Beziehungen zwischen der RNB (g/MJ ME), der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration (mmol/l), dem Blut-N- (BUN, mmol/l) und Milchwahnstoff-N-Gehalt (MUN, mmol/l)	94
Tabelle 20:	Gleichungen zur Schätzung der Harn-N-Ausscheidung (UN, g/Tag) unter Berücksichtigung des Milchwahnstoff-N-Gehaltes (MUN, mg/dl), Körpergewicht (KG, kg), der N-Aufnahme (kg/Tag) oder des Blutharnstoff-N-Gehaltes (BUN, mg/dl)	105

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Funktionen der Pansenmikroorganismen	4
Abb. 2:	Eiweißstoffwechsel des Wiederkäuers (nach KIRCHGEßNER 1997)	10
Abb. 3:	Rumino-hepatischer Kreislauf (nach ENGELHARDT & BREVES 2000)	13
Abb. 4:	Zeitliche Abfolge der Probenentnahme während des Versuches (*VW = Versuchswochen)	33
Abb. 5:	Verlauf des pH-Wertes im Pansensaft während der ersten 5 Stunden nach Fütterungsbeginn (n=4)	57
Abb. 6:	Verlauf der NH <sub>3</sub> -N-Konzentration im Pansensaft während der ersten 5 Stunden nach Fütterungsbeginn	59
Abb. 7:	Mittlere NH <sub>3</sub> -N-Konzentration im Pansensaft und Darmchymus drei Stunden nach Fütterungsbeginn bei unterschiedlicher RNB	62
Abb. 8:	Mittlere Harnstoffgehalte in der Milch und im Blutserum bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz	70
Abb. 9:	Mittlere tägliche N-Ausscheidung im Kot und Harn bei unterschiedlicher RNB	71
Abb. 10:	NH <sub>3</sub> -N-Konzentration im Pansen- und Darmsaft 3 Stunden nach Morgenfütterung in Abhängigkeit	

	der „analysierten“ ruminalen Stickstoffbilanzen der Einzeltiere	80
Abb. 11:	Stickstofffluss am Duodenum bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz	84
Abb. 12:	Tägliche mikrobielle Proteinsyntheseleistung bei den Einzeltieren in Abhängigkeit von der „analysierten“ ruminalen Stickstoffbilanz	87
Abb. 13:	Menge an mikrobiellem Protein (MP) und an unabgebautem Futterprotein (UDP) am Darm bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz (MP+UDP=nXP)	89
Abb. 14:	Milch- und Blutharnstoff-N-Gehalte in Abhängigkeit von der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration	95
Abb. 15:	Harnstoffgehalt in der Milch und im Blutserum in Abhängigkeit von der „analysierten“ ruminalen Stickstoffbilanz	97
Abb. 16:	Verhältnis zwischen den Harnstoffgehalten im Blutserum (BUN) und in der Milch (MUN) (n026) (MUN (mmol/l) = 0,70 *BUN (mmol/l) – 0,03; r <sup>2</sup> =0,83)	102
Abb. 17:	Gemessene Werte für die Harn-N-Ausscheidung im Vergleich zu den über verschiedene Gleichungen aus dem Milchwarnstoffgehalt errechnete Harn-N-Menge	106
Abb. 18:	Mittlere Gehalte an Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)	

und Aspartat-Amino-Transferase (AST) im Blutserum in Abhängigkeit von der ruminalen Stickstoffbilanz

108

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
d	Tag
DM	dry matter (Trockensubstanz)
DS	Darmsaft
FAL	Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig
FCM	fettkorrigierte Milchmenge (4% Fett)
fFS	flüchtige Fettsäuren
FM	Frischmasse
FN <sub>e</sub>	endogene Stickstoffverluste mit dem Kot
FOM	fermentierbare organische Masse
GF	Grundfutter
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
GC	Gaschromatographie
h	Stunde
i.D.	im Durchmesser
i.d.T.	in der Trockensubstanz
KF	Krafftutter
LM	Lebendmasse
LM <sup>0,75</sup>	metabolische Lebendmasse
ME	Metabolizable Energy (umsetzbare Energie)
MJ	Mega-Joule
MN	mikrobieller Stickstoff
MP	mikrobielles Protein
N	Stickstoff
NAN	Nicht Ammoniak Stickstoff
NDF	neutral detergent fibre
NEL	Nettoenergie Laktation
NfE	Stickstoff- freie Extraktstoffe
NH <sub>3</sub> -N	Ammoniakstickstoff

NIRS	Nah-Infrarot-Spektroskopie
NPN	Non Protein Nitrogen
nXP	nutzbares Rohprotein
OM	organische Masse
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PS	Pansensaft
RDP	ruminal digest. protein (abbaubares Rohprotein)
RNB	ruminale Stickstoffbilanz (g/MJ ME oder g/Tag)
s	Standardabweichung
SAS	Statistical Analysis System
SD	Standard derivation
T	Trockensubstanz
Tab.	Tabelle
u.a.	und andere
UDP	unabgebautes Futterprotein
U/min	Umdrehungen / Minute
UN <sub>e</sub>	endogene Stickstoffverluste mit dem Harn
VDLFU	Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
VQ	Verdaulichkeitsquotient
VN	Oberflächenverluste an Stickstoff über Haut und Haare
XA	Rohasche
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein
XX	Stickstoff-freie Exktraktionsstoffe
x	Mittelwert

## 1. EINLEITUNG

Im deutschen Proteinbewertungssystem für Milchrinder und Aufzuchtrinder (GfE, 2001) sowie auch in den Proteinbewertungssystemen anderer Länder (INRA, 1989; AFRC, 1993 und CVB 1991) wird davon ausgegangen, dass eine ausreichende Versorgung des Tieres mit Protein immer gekoppelt ist an eine möglichst maximale mikrobielle Proteinsynthese. Somit ist neben der Versorgung des Tieres mit nutzbarem Rohprotein (nXP) eine ausreichende Versorgung der Pansenmikroorganismen mit Stickstoff sicher zu stellen. Hierfür wird die ruminale Stickstoffbilanz (RNB) als Maßstab verwendet. Sie errechnet sich aus der Differenz zwischen dem aufgenommenen Futterrohprotein und dem nutzbaren Rohprotein geteilt durch 6,25 ( $RNB = (XP - nXP) / 6,25$ ). Somit kann anhand der RNB eine Bewertung der N-Versorgung der Pansenmikroorganismen vorgenommen werden, die neben der Energieversorgung maßgeblichen Einfluss auf die Höhe des gebildeten mikrobiellen Proteins besitzt.

Eine positive ruminale Stickstoffbilanz kennzeichnet einen N-Überschuss im Pansen. Dabei kommt es zu einer erhöhten Belastung des Wirtsorganismus sowie durch eine erhöhte renale N-Ausscheidung zu einer Belastung der Umwelt. Letztlich führt dies zu einer weniger effizienten Nutzung des Proteins. Demgegenüber muss ausreichend Stickstoff im Pansen verfügbar sein, um eine maximale Fermentation von Strukturkohlenhydraten und mikrobielle Protein- und Vitamin-B-Synthese zu gewährleisten. Bei negativen RNB-Werten werden verstärkt rezikulierende N-Quellen durch die Pansenmikroben genutzt, um die de-novo Synthese von Protein aufrechtzuerhalten. Dies muss aber nicht zwangsläufig zu einer verminderten Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese führen.

Es stellt sich somit die Frage nach der geringstmöglichen Menge an pansenverfügbarem N (RNB), die ohne negative Auswirkungen auf die Abbau- und Syntheseleistungen der Pansenmikroorganismen bleibt.

Der Ausschuss für Bedarfsnormen (GfE, 2001) gibt an, dass die mikrobielle Proteinsynthese im Mittel ca. 10,1 g/MJ ME beträgt. Dies entspricht einem Wert von 1,6 g N/MJ ME. Weiterhin wird aufgrund des bisherigen Kenntnisstandes (GfE, 2001) davon ausgegangen, dass bis zu 20 % des mikrobiell synthetisierten Proteins aus rezir-

kuliertem Stickstoff kommen können. Daraus ließe sich eine zu tolerierende negative ruminale Stickstoffbilanz von max.  $-0,3$  g/MJ ME ableiten. Um eine hohe Effizienz des eingesetzten Futterproteins zu gewährleisten, wird durch die GfE (2001) eine ausgeglichene ruminale Stickstoffbilanz empfohlen, aber auch Werte von bis zu  $+100$  g pansenverfügbaren Stickstoffs/ Tag sind noch als unkritisch für die Kuh anzusehen. Praxisübliche Empfehlungen weisen in der Regel positive ruminale Stickstoffbilanzen von etwa  $50$  g verfügbarem N/ Tag aus.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss verschiedener ruminaler Stickstoffbilanzen bei bedarfsgerechter nXP- und NEL-Versorgung der Tiere auf die Pansenfermentation, die mikrobielle Proteinsynthese, die nXP-Menge und auf einige Parameter der Stickstoffausscheidung zu überprüfen. Im Mittelpunkt stand dabei der von der GfE (2001) als unkritisch angesehene Wert von  $-0,3$  g RNB/MJ ME. Er wurde sowohl unterschritten ( $-0.6$  g/MJ ME), als auch überschritten ( $0$  und  $+0.3$  g/MJ ME).

## **2. LITERATURÜBERSICHT UND ABLEITUNG DER AUFGABENSTELLUNG**

### **2.1. Aufgaben und Bedeutung des Pansens**

Die Ausbildung der Vormägen, insbesondere des Pansens, beim Wiederkäuer führt zu wesentlichen Besonderheiten im Hinblick auf ihre Verdauungsphysiologie. Die wiedergekaute Nahrung gelangt in den nicht mit Drüsenschleimhaut ausgekleideten Pansen und unterliegt dort in beträchtlichem Umfang mikrobiellen Ab- und Umbauprozessen (PÜSCHNER & SIMON 1988 und VAN SOEST 1994). Der Wiederkäuer und das im Pansen befindliche Ökosystem der Mikroorganismen stellen eine symbiotische Beziehung dar, da beide Partner auf die Leistungen des jeweils anderen angewiesen sind. Das Wirtstier sichert den Mikroorganismen eine konstante Körpertemperatur, die Substratbereitstellung aus Futter und endogenen Sekreten sowie die Erhaltung des Fließgleichgewichtes durch Speichelsekretion und Flüssigkeits- bzw. Partikelumsatz. Die Mikroorganismen stellen dafür dem Wirtstier durch Fermentations- und Syntheseleistungen hochwertige Nährstoffe zur Verfügung (ENGELHARDT v. & BREVES 2000). Durch den mikrobiellen Abbau von pflanzlichen Zellwandbestandteilen, wie Zellulose und andere Kohlenhydrate, werden kurzkettige Fettsäuren gebildet, die dem Wirtstier Energie für Erhaltung, Wachstum und Milchproduktion zur Verfügung stellen. Daneben ist die Synthese von mikrobiellem Protein für den Wiederkäuer von hoher physiologischer Bedeutung. Durch ihre Syntheseleistungen können die Pansenmikroorganismen zur Versorgung des Wirtstieres mit B- und K-Vitaminen beitragen (ENGELHARDT v. & BREVES 2000). Der Wiederkäuer mit voll funktionsfähigem Vormagensystem ist somit in der Regel unabhängig von einer Zufuhr der B-Vitamine (PÜSCHNER & SIMON 1988). Die Synthese des Vitamin B<sub>12</sub> hat allerdings eine ausreichende Versorgung mit Kobalt über das Futter als Voraussetzung (WALKER & ELLIOT 1972; GIRARD 1998 und STEMME 2002). Darüber hinaus sind einige Pansenbakterien in der Lage, potenziell toxische Substanzen zu inaktivieren (u.a. Nitrite, Phytoöstrogene, Pflanzen- und Pilztoxine).

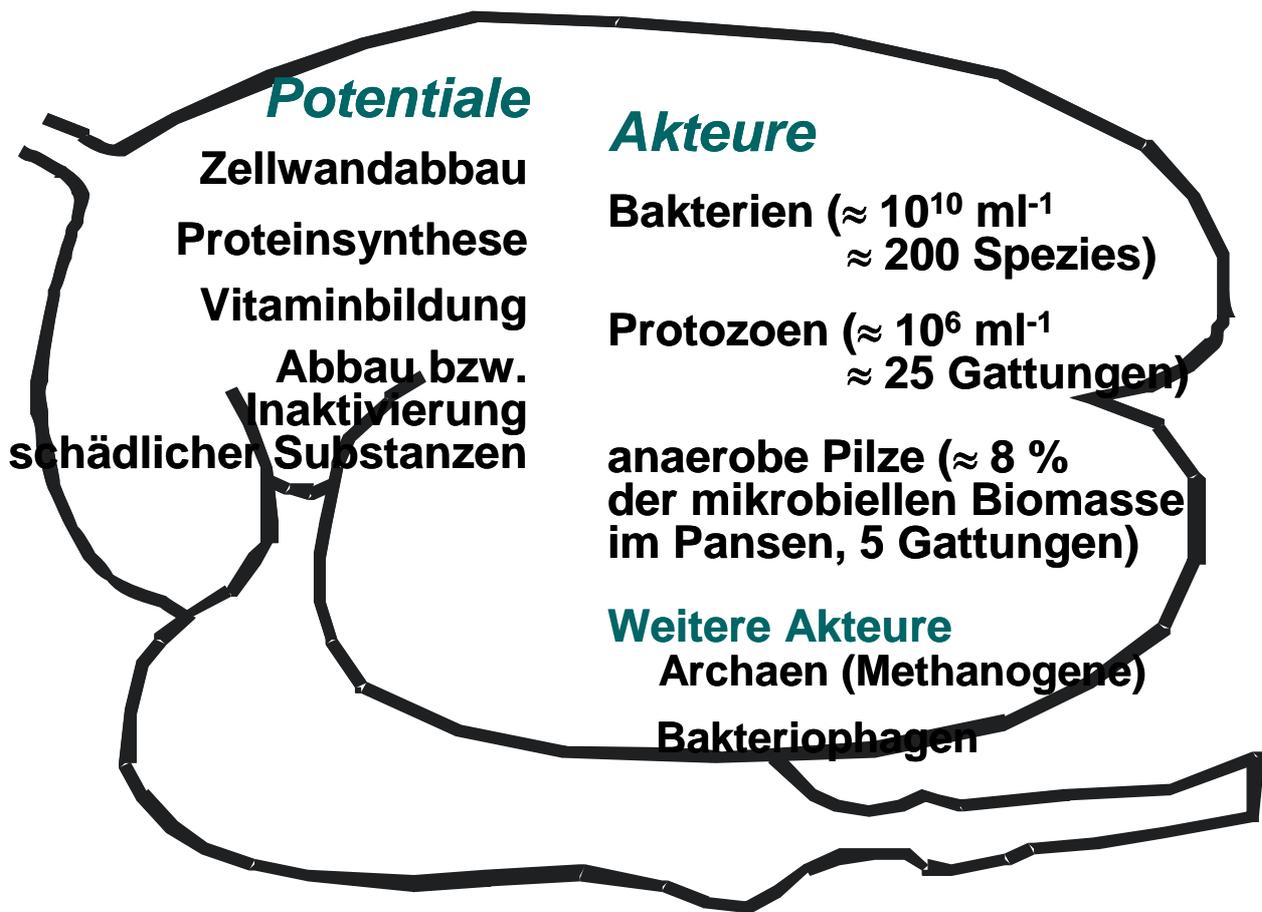


Abbildung 1: Funktionen der Pansenmikroorganismen

## 2.2. Die Pansenmikroorganismen

Die Population der Pansenmikroorganismen ist komplex und unterschiedlich (RUSSEL & HESPELL 1981 und VAN SOEST 1994). Sie besteht aus Bakterien, Protozoen, Pilzen sowie Archaen und Bakteriophagen. Die unterschiedlichste und größte Gruppe sind die Bakterien (HUNGATE 1966 und RUSSEL & HESPELL 1981). Beim erwachsenen Rind beträgt die Anzahl an Bakterien etwa  $10^{10}$  bis  $10^{11}$  je ml Pansensaft. Dabei handelt es sich zum größten Teil um obligat anaerobe und nur zu einem kleinen Anteil um fakultativ oder obligat aerobe Keime ( $10^4/\text{ml}$ ) (ENGELHARDT v. & BREVES 2000). Die Protozoen kommen in Konzentrationen

zwischen  $10^5$  und  $10^8$  Zellen je ml Pansenflüssigkeit vor (HUNGATE 1966 und COLEMAN 1975). Da sie ihren Nährstoffbedarf durch die Aufnahme nicht nur von Futterpartikeln, sondern auch von Bakterien, Pilzen und anderen Protozoen decken, regulieren sie u.a. die Bakterienpopulation.

Die weniger unterschiedliche Gruppe der Pilze nimmt ebenfalls eine Größenordnung um  $10^5$ /ml ein. Unter bestimmten Voraussetzungen können sie allerdings bis zu 25% der Mikrobenmasse ausmachen (STEWART et al. 1986 und NRC 2001).

Durch das Ineinandergreifen der einzelnen Mikroorganismengruppen wird zunehmend von einer mikrobiellen Gemeinschaft im Pansen gesprochen (HOBSON 1988; BALDWIN 1995 und DEHORITY 2003).

Die Zusammensetzung der Mikrobenpopulation wird durch die Fütterung beeinflusst. Bei rauhfutterreichen Rationen ist eine sehr vielfältige Gesamtflora anzutreffen. Bei krautfutterreicher Fütterung kann zwar die Keimzahl stark erhöht sein, dabei ist jedoch die Artenvielfalt vermindert (PFEFFER 1987). Nach DIERCHEN et al. (1982) erhöht sich bei steigendem Gehalt an leicht fermentierbaren Kohlenhydraten in der Ration zunächst die Zahl der Protozoen. Allerdings wird bei zu hoher Konzentratgabe ohne ausreichenden Rauhfutteranteil durch den pH-Wert-Abfall die Protozoenzahl nach kurzzeitigem Anstieg stark vermindert bzw. sogar eliminiert. Neben der Menge beeinflussen auch Art und Herkunft der Kohlenhydrate die Anzahl der Protozoen. EADIE et al. (1970) beschrieben eine Eliminierung der Protozoen bei pH-Werten unter 5,5. Dagegen stellten KOTARSKI et al. (1992) in späteren Versuchen fest, dass die meisten Arten der Protozoen nicht in der Lage sind, in einem Milieu mit pH-Werten unter 6,0 zu überleben. Sie wiesen darauf hin, dass neben dem pH-Wert auch andere Faktoren (wie z.B. Futterzusammensetzung, Höhe der Futteraufnahme, tierindividuelle Unterschiede oder Änderungen der Zusammensetzung der Bakterienpopulation) für eine Verminderung der Protozoenpopulation verantwortlich sein können. So zeigten zum Beispiel bereits RUSSEL et al. (1986) eine mit der Abbaurate der Kohlenhydrate proportional zunehmende Wachstumsrate der Mikroorganismen, solange der benötigte Stickstoff in ausreichender Menge zur Verfügung stand.

## 2.3. Pansenmetabolismus

### 2.3.1. Kohlenhydratabbau

Die kohlenhydratabbauenden Mikroben können in zwei Gruppen eingeteilt werden. So unterscheidet man Strukturkohlenhydrat- und Nicht-Strukturkohlenhydrat-abbauende Mikroorganismen.

#### 2.3.1.1. *Ruminaler Abbau der Nicht-Strukturkohlenhydrate*

Die Nicht-Strukturkohlenhydrate bestehen zu unterschiedlichen Anteilen aus Zucker und Stärke und haben eine variierende Fermentation dieser Kohlenhydratgruppe zur Folge (SNIFFEN & ROBINSON 1987). In praxisüblichen Wiederkäuerrationen macht Stärke jedoch den überwiegenden Anteil der Nicht-Strukturkohlenhydrate aus. Der ruminale Stärkeabbau erfolgt hauptsächlich extrazellulär durch die Enzyme amylytischer Bakterien (FRENCH 1973). Diese Enzyme kommen auch im Sekret der Bauchspeicheldrüse und im Speichel vieler Tiere vor. Da Stärkegranula jedoch nicht nur Amylose und Amylopektin enthalten, sind zur vollständigen Stärkeverdauung auch nicht-amylytische Enzyme notwendig (CONE 1991). Die Endprodukte des mikrobiellen Stärkeabbaus sind neben Methan und CO<sub>2</sub> die flüchtigen Fettsäuren. Diese sind die Hauptenergiequellen der Wiederkäuer und werden zur Gluconeogenese sowie zur Körper- oder Milchfettbildung herangezogen. Die Konzentrationen und relativen Anteile an Essig-, Propion- oder Buttersäure sind u.a. abhängig von dem Grund- zu Krafftutterverhältnis.

Pansenprotozoen sind in der Lage, ganze Futterpartikel oder Stärkegranula aufzunehmen, komplexe Kohlenhydrate zu verwerten (MORRISON 1979) und diese so dem schnellen ruminalen Abbau zu entziehen (BELZECKI & MICHALOWSKI 2001). Nach HUNTINGTON (1997) werden Umfang und Intensität des Stärkeabbaus von der Stärkequelle, der Rationszusammensetzung, der Futtermenge je Mahlzeit, mechanischen und chemischen Behandlungen der Futtermittel sowie durch die Anpas-

sung der Pansenflora an die jeweilige Futterration beeinflusst. Die Stärke, die unabgebaut den Dünndarm erreicht, kann dort verdaut, als Glucose absorbiert effizienter für die Lactosesynthese genutzt werden, als über den Weg der Gluconeogenese (CHASE 1993 und NOCEK & TAMMINGA 1991). Die effiziente Nutzung der so genannten Bypass-Stärke ist jedoch begrenzt (MATTHÉ et al. 2001). Bei ungenügendem Angebot an Rohprotein bzw. Ammoniak kann der Abbau der Strukturkohlenhydrate abnehmen (NOCEK & RUSSEL 1988). Bei Rationen mit einem hohen Anteil an leicht fermentierbaren Kohlenhydraten kommt es zu einem Anstieg der Konzentration an flüchtigen Fettsäuren und verstärkter Bildung von Milchsäure im Pansen (KAMPHUES et al. 1999). Die vermehrte Milchsäurebildung führt zu erniedrigten pH-Werten und einer damit einhergehender Eliminierung der Protozoen. Hohe Krafftteranteile, verbunden mit niedrigem Rohfasergehalt, haben zudem eine unzureichende Stimulierung des Wiederkaureflexes zur Folge (ORSKOV 1986). Dadurch gelangt nur wenig bicarbonatreicher Speichel in den Pansen, so dass die gebildeten Säuren nicht entsprechend abgepuffert werden können. Unter diesen Bedingungen kommt es zu einer erhöhten Vermehrung der Laktobazillen, die in großen Mengen Laktat produzieren. Dieses Laktat kann zu Funktionsstörungen, wie z.B. Indigestion, bis hin zur Pansenacidose führen (KAMPHUES 1998). Als klinische Symptome treten bei der akuten Acidose in leichten Fällen Anorexie, Unruhe der Tiere, eine reduzierte Pansenmotorik und Milchleistungsrückgang auf. In schweren Fällen kann es zu komatösen Zuständen mit Festliegen und zum Tod der Tiere kommen. Als pathologische Veränderungen werden am Pansen Schädigungen der Pansenschleimhaut und Ulzerationen festgestellt. Die Pansenacidose kann zur Entstehung von Labmagenverlagerungen beitragen (HOFMANN 1992).

Auch RUSSEL et al. (1981) und SNIFFEN et al. (1983) beschrieben bei einem hohen Anteil von Stärke und Zucker in der Ration bei reduziertem pH-Wert eine Akkumulation von Laktat mit einer entsprechenden Änderung der Mikrobiopopulation und einer verringerten Futteraufnahme.

Die Stärke, die unabgebaut den Pansen verlässt, kann zwar die Gefahr der Pansenacidose vermindern und die Glucoseversorgung der Tiere verbessern, liefert jedoch keine Energie für die mikrobielle Proteinsynthese.

### *2.3.1.2. Ruminaler Abbau von Strukturkohlenhydraten*

Den größten Teil der Kohlenhydrate in Wiederkäuerrationen überhaupt machen die pflanzlichen Zellwandkohlenhydrate, wie u.a. Zellulose, aus. Diese können nur durch Mikroorganismen abgebaut werden, da Säugetiere keine Enzyme besitzen, die in der Lage sind,  $\beta$ -glycosidische Bindungen zu spalten. Die zellulose- und hemizelluloseabbauenden Bakterien wachsen langsam und nutzen Ammoniak als N-Quelle für die mikrobielle Proteinsynthese. Durch die hydrolytische Spaltung der Zellwandkohlenhydrate entstehen Monomere, die in weiteren Schritten über Pyruvat zu kurzkettigen Fettsäuren umgewandelt werden (v.a. Acetat, Propionat und Butyrat). Diese stehen dem Wiederkäuer als Energiequelle zur Verfügung (ENGELHARDT & BREVES 2000).

Tiefe pH-Werte führen zu einer deutlichen Reduktion der Anzahl an zellulolytischen Bakterien und einer entsprechend verminderten Faserverdauung. Stärke übt somit indirekt einen negativen Effekt auf die ruminale Abbaubarkeit von Zellwandbestandteilen aus (BYERS 1974 und JOANNING et al. 1981). Auch BRINK & STEELE (1985) beschrieben eine Abnahme des ruminale NDF-Abbaus mit zunehmendem Stärkeanteil in der Ration. Dies kann u.a. direkt auf die kompetitive Hemmung der Bakterien durch das begrenzt vorhandene Substratangebot oder indirekt, auf den reduzierten pH-Wert (CONE 1991) zurückgeführt werden. Bei sinkendem pH-Wert kommt es zudem zu einer Anlagerung von  $H^+$ -Ionen an die Gerüstkohlenhydrate anstelle von Metallionen und damit zu einer Verschlechterung der Haftbedingungen für die zellulolytischen Mikroben an den Zellwänden (SOEST Van 1994). Dies verstärkt den negativen Einfluss konzentratreicher Fütterung auf den Zellwandabbau.

Auch ein Fettzusatz in der Ration kann einen negativen Einfluss auf die ruminale Umsetzungen der Zellwandbestandteile im Pansen haben. Die Stärke- und Zucker- verdauung ist unter dieser Bedingung dagegen kaum betroffen. Es wurden hemmende oder sogar toxische Wirkungen besonders von langkettigen, ungesättigten Fettsäuren insbesondere auf grampositive Pansenbakterien beschrieben (HENDERSON 1973; MACZULAK et al. 1981 und KABARA 1984). Andere Autoren erklärten den

Rückgang des Zellwandabbaus mit einer Ummantelung der Faserteile mit Fetten, wodurch diese vor dem mikrobiellen Angriff geschützt werden (GRAINGER et al., 1961; DEVENDRA & LEWIS 1974; KOWALCZYK et al. 1977; IKWUEGBU & SUTTON 1982; SUTTON et al. 1983 und ABEL et al. 1985).

### 2.3.2. Proteinumsatz

#### *2.3.2.1. Proteinabbau*

Der über das Futter den Pansen erreichende Stickstoff stammt aus Proteinen und NPN-Verbindungen (freie Aminosäuren, Nitrat, Harnstoff, Harnsäure). Zur Stickstoff-Versorgung der Vormagenmikroorganismen tragen neben dem Futter auch endogene Sekrete (Mucoproteine und Harnstoff sowie abgeschilferte Epithelzellen) und über die Pansenwand rezirkulierter Harnstoff bei (ENGELHARDT & BREVES 2000). Über mikrobielle Proteasen werden die Proteine enzymatisch bis zu Oligo- und Dipeptiden sowie Aminosäuren und ein Großteil dieser Verbindungen weiter zu  $\text{NH}_3$  abgebaut. Auch aus NPN-Verbindungen wird relativ schnell Ammoniak im Pansen freigesetzt (NOCEK 1988).

In der Abbildung 2 sind die Wege des Stickstoffs im Pansen dargestellt.

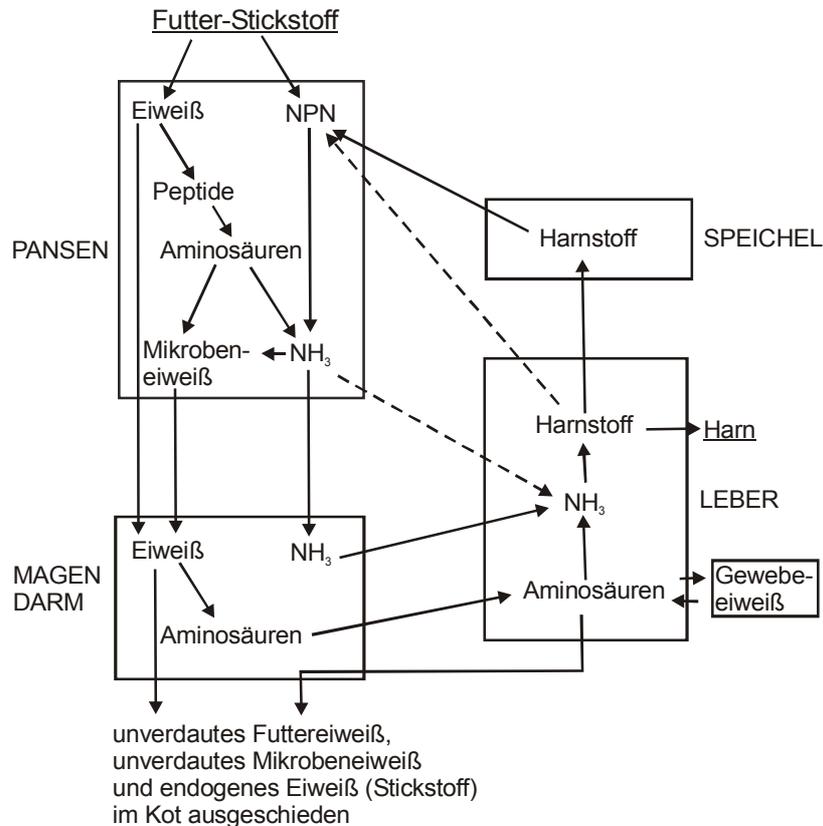


Abbildung 2: Eiweißstoffwechsel der Wiederkäuer (nach KIRCHGEßNER 1997)

Die unterschiedliche ruminale Abbaubarkeit verschiedener Proteinquellen fassten SATTER et al. (1979) und STERN & SATTER (1982) in Tabellen zusammen. Es zeigten sich Werte für den Proteinabbau im Pansen zwischen 0 und 100%. BRODERICK (1982) führte in vitro-Studien durch, in denen insbesondere der Einfluss der Löslichkeit verschiedener Proteinquellen auf die Abbaubarkeit bestimmt wurde. Es zeigte sich, dass die löslichen Komponenten deutlich schneller im Pansen abgebaut wurden als die unlöslichen bzw. schwerer löslichen Anteile. In einer späteren Arbeit beschrieben BRODERICK et al. (1991) den unterschiedlichen Proteinabbau verschiedener Proteinquellen auch anhand von in vivo-Versuchen. ZINN & OWENS (1983b) führten Untersuchungen zum „Bypass“-Wert einiger Referenzproteine durch.

Nicht nur durch das Protein selbst, sondern auch durch eine chemische oder physikalische Behandlung können Veränderungen in der ruminalen Abbaubarkeit hervorgerufen werden. So hatte zum Beispiel eine Behandlung von Sojaextraktionsschrot mit Xylose oder Lignosulfonaten eine stark reduzierte Pansenabbaubarkeit, bei unveränderter Verfügbarkeit am Darm zur Folge. SATTER (1986) arbeitete u.a. mit Wärme, Aldehyden und Tanninen um die Pansenabbaubarkeit von Proteinen zu beeinflussen. Bei NUGENT et al. (1983) führte eine Acetylierung zu einer reduzierten Abbaubarkeit des Sojaproteins.

Neben dem Futterprotein selbst und seiner Behandlung tragen noch eine Reihe weiterer Faktoren zu einem unterschiedlichen Abbau im Pansen bei. So ist eine steigende Futteraufnahme mit einer höheren Passagereate verbunden. Bereits TAMMINGA et al. (1979) und später auch ZINN & OWENS (1983a) stellten bei höherer Futteraufnahme einen reduzierten Abbau des Proteins im Pansen fest. Auch von anderen Autoren konnte bei wachsenden Rindern (GRIFFITHS 1984) sowie bei laktierenden Kühen (ROHR et al. 1979) eine Abhängigkeit des Proteinabbaus von der Höhe der Futteraufnahme bzw. der Passagereate festgestellt werden.

Von ERFLE et al. (1982) wurde ein Einfluss des Krafftutteranteils auf den ruminalen Proteinabbau festgestellt. Sie fanden in vitro eine markant verringerte Protease- und Desaminase-Aktivität bei einer pH-Wert-Änderung von 6-7 auf 5,5. Dagegen wurde unter praktischen Bedingungen eine Veränderung der proteolytischen Aktivität eher auf eine Veränderung in der Zusammensetzung der Mikroflora zurückgeführt als direkt auf den pH-Wert (BRÜGGEMANN et al. 1962; RUSSEL & HESPELL 1981 und BUTTERY & LEWIS 1982).

Als Endprodukt des Proteinabbaus im Pansen entsteht hauptsächlich Ammoniak (s. Abb. 2). Ammoniak wird durch bakterielle Urease aus Harnstoff, der aus Futter oder aus dem Blut stammt, oder mikrobiell durch Desaminierung aus Aminosäuren und Peptiden freigesetzt (PITTMAN & BRYANT 1964; PITTMANN et al. 1967 und ALLISON 1970).

ALLEN & MILLER (1976) fanden in Versuchen mit Hammeln und Lämmern einen signifikanten Anstieg der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration bei höherer Futter-

N-Aufnahme zusammen mit dem rezirkulierenden Stickstoff (bestimmt unter Verwendung von  $^{14}\text{C}$ ). Auch in einer Vielzahl von späteren Arbeiten wurde bei steigendem Rohproteingehalt in der Ration ein Anstieg der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration festgestellt, so z.B. bei HA & KENNELLY (1984), FIRKINS et al. (1987), KIRKPATRICK & KENNELLY (1989) und GABLER & HEINRICHS (2003).

Das von den Mikroorganismen gebildete Ammoniak wird in die Pansenflüssigkeit ausgeschieden. Die Höhe der ruminalen  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration im Pansen wird durch die Assimilation der Mikroorganismen, die Resorption durch die Pansenwand und den Abfluss in den Darmtrakt bestimmt (ENGELHARDT & BREVES, 2000).

Im Pansen nicht für die mikrobielle Proteinsynthese genutztes Ammoniak wird in das Blut überführt. Im umgekehrten Fall kann bei Bedarf aus dem Blutharnstoff Ammoniak im Pansen freigesetzt werden (ruminohepatischer Kreislauf, s. Abb. 3). Bereits CHALMERS et al. (1976) beschrieben eine positive Korrelation zwischen der Ammoniakkonzentration im Pansen und der Absorption durch die Pansenwand. Somit erfolgt die Passage von Harnstoff (aus dem Blut in den Pansen) bzw.  $\text{NH}_4^+$  (aus dem Pansen in das Blut) aufgrund des Konzentrationsgradienten durch Diffusion (ENGELHARDT & BREVES 2000). Durch die Höhe der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration wird bestimmt, in welche Richtung die Diffusion erfolgt (s. auch 2.3.2.2.). Ebenso führt eine ungenügende Zufuhr an Kohlenhydraten bei großen Stickstoff-Mengen im Pansen zu N-Verlusten in Form von Ammoniak, da nicht ausreichend Energie für die mikrobielle Proteinsynthese zur Verfügung steht. Dadurch kommt es zu einer Erhöhung des Harnstoffgehaltes im Blut und somit zur Belastung des Stoffwechsels der Tiere und der Umwelt.

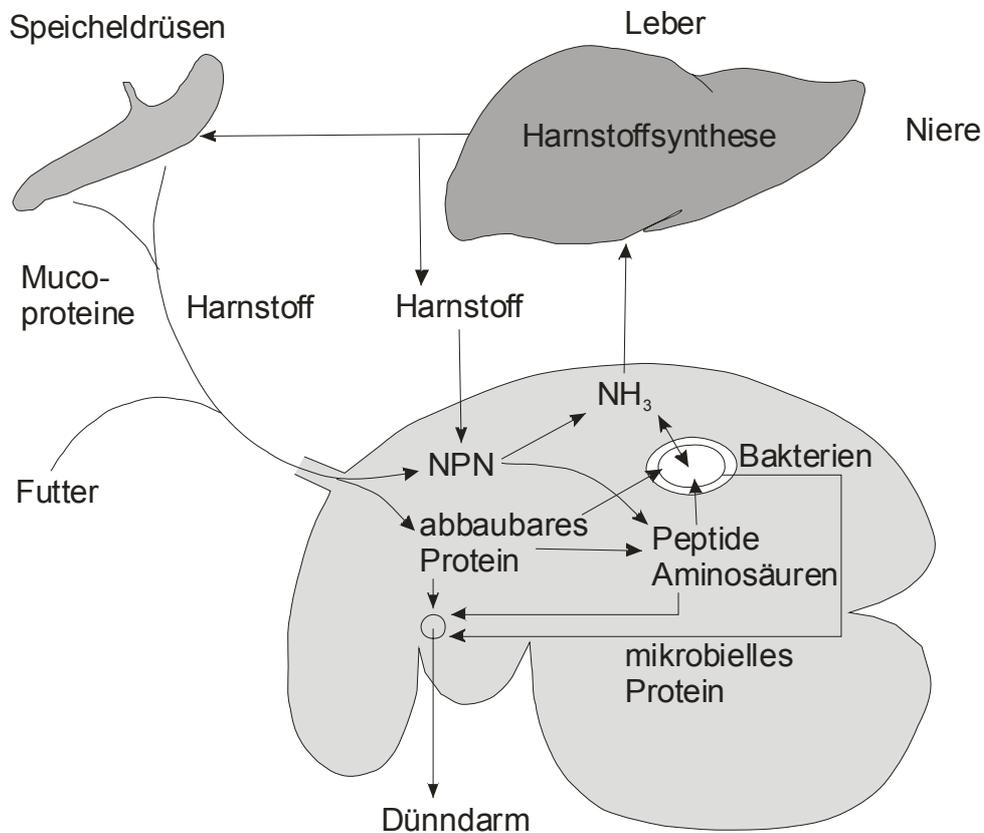


Abbildung 3: Rumino-hepatischer Kreislauf (nach ENGELHARDT & BREVES 2000)

Da Ammoniak bereits in niedrigen Konzentrationen ein Zellgift darstellt, wird es umgehend zu Harnstoff umgewandelt. KAUFMANN (1979) fand bei Tieren, die im Energiedefizit und mit ansteigendem Proteingehalt in der Ration gefüttert wurden, eine erhöhte Konzentration an ruminalen Ammoniak und ebenfalls einen Anstieg des Plasmaharnstoffgehaltes. Auch FOLDAGER & HUBER (1979) kamen zu dem Schluss, dass die ruminale Ammoniak-N-Konzentration und der Plasmaharnstoffgehalt die Menge an Protein und NPN-Verbindungen im Futter widerspiegeln. HA & KENNELLY (1984) stellten bei steigendem Rohproteingehalt in der Ration nicht nur einen Anstieg der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration, sondern auch einen engen

Zusammenhang zum Blutharnstoffgehalt fest. Auch nach Arbeiten von REFSDAL (1983) und OLTNER et al. (1985) reflektiert der Blutharnstoff-N-Gehalt die XP-Aufnahme. Dabei fanden OLTNER & WIKTORSSON(1983) und in späteren Versuchen OLTNER et al. (1985) auch einen signifikanten Effekt des Protein-Energie-Verhältnisses auf den Blutharnstoff-N-Gehalt. In ihrer Arbeit wurde der Blutharnstoff-N-Gehalt bei gleicher XP-Aufnahme durch eine höhere Energie-Aufnahme reduziert. FOLMAN et al. (1981) untersuchten den Einfluss unterschiedlicher Proteingehalte sowie einer unterschiedlichen ruminalen Abbaubarkeit auf Pansen- und Blutparameter. Es zeigten sich ebenfalls bei höherer Abbaubarkeit des Proteins im Pansen ein Anstieg der ruminalen Ammoniakkonzentration und eine erhöhte Harnstoffkonzentration im Blutplasma. Auch in der Arbeit von ROBINSON et al. (1991) wurde die höchste ruminale Ammoniak-Konzentration sowie der höchste Plasmaharnstoffgehalt nach dem Einsatz der Ration mit der höchsten Abbaubarkeit des Proteins im Pansen gefunden. Bereits bei OLTNER & WIKTORSSON (1983), OLTNER et al. (1985) und RODRIGUEZ et al. (1997) wurde beschrieben, dass der Blutharnstoffgehalt ein Maß für die Höhe des ruminalen Proteinabbaus ist. Die Beziehung zwischen der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration und dem Harnstoffgehalt im Blut wurde auch in jüngere Arbeiten von MONTEILS et al. (2002) und GABLER & HEINRICHS (2003) bestätigt.

#### 2.3.2.2. *Mikrobielle Proteinsynthese*

Neben der Möglichkeit des Abbaus pflanzlicher Zellwandbestandteile sind die Pansenbakterien vor allem durch die Fähigkeit zur Proteinsynthese und der damit verbundenen Bereitstellung hochwertiger Proteine für den Wiederkäuer von hoher Bedeutung. Bereits VIRTANEN (1966) und OLTJEN (1969) zeigten die Möglichkeiten der Wiederkäuer, ohne Aufnahme von Aminosäuren oder Futterprotein, allein aus NPN-Verbindungen Leistungen in Form von Körperzuwachs, Reproduktion und Laktation zu erbringen. So bestehen 40 bis 80% des am Darm ankommenden Eiweißes aus Mikrobenprotein. Die biologische Wertigkeit (BW) des Mikrobenproteins stand bereits in einer Vielzahl früherer Arbeiten im Blickpunkt des Interesses. Die Angaben

zur BW liegen zwischen 66 und 87 (JOHNSON et al. 1944 und WILLIAMS 1951). BERGEN et al. (1968 a und b) fanden eine BW von 85 für das Bakterien- und 82 für das Protozoenprotein. Nach SMITH et al. (1975) sind die wichtigsten N-Komponenten der Pansenmikroben Protein (75 bis 85 %) und Nukleinsäuren (13 bis 19 %). Die Aminosäurezusammensetzung der Pansenbakterien ist relativ konstant (PURSER & BÜCHLER 1966), kann aber geringgradig variieren (SIMON et al. 1973 und SALTER et al. 1978). In ihrem Aminosäuremuster weichen die Protozoen von dem der Bakterien ab (BERGEN et al. 1968a).

In einer Vielzahl von Arbeiten wurden Untersuchungen über die optimalen Wachstumsbedingungen für die Mikroorganismen durchgeführt. Unter Verwendung reiner oder gemischter Kulturen von Pansenmikroorganismen studierten HESPELL & BRYANT (1979), RUSSEL & BALDWIN (1978 und 1979), BATES et al. (1985) und GRISWOLD et al. (1996) die Wachstumsrate der Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Substratmenge. Bereits PIRT (1965) stellte zwei Einflussgrößen auf die Höhe der mikrobiellen Proteinmasse besonders heraus, zum einen den Gehalt an verfügbarem Substrat und zum anderen die Energie. MAENG et al. (1975), COTTA & RUSSEL (1982) und GRISWOLD et al. (1996) wiesen die Bedeutung einer Zufuhr von Aminosäuren und Peptiden auf die Wachstumsrate einzelner Mikroben nach. Das Verhältnis von NPN zu Aminosäuren sollte nach ihren Aussagen für ein optimales Mikrobenwachstum 75% Harnstoff-N und 25% Aminosäuren-N betragen. Dies waren allerdings Erkenntnisse aus in vitro- Studien mit z.T. reinen Kulturen. Im Pansen liegt eine mikrobielle Mischpopulation vor. Bei entsprechenden in vivo Untersuchungen können somit diese Effekte durch andere Faktoren maskiert sein, insbesondere durch Interaktionen zwischen den über 200 Spezies der Pansenmikroorganismen (DEWURST 2000).

RUSSEL et al. 1978 und 1979) beschrieben in früheren in vitro Versuchen eine Beeinflussung der Wachstumsrate durch die Energiequelle und den pH-Wert im Inkubationsmedium. Auch McMENIMAN (1975) stellten den Umfang des Mikrobenwachstums in Abhängigkeit zu der fermentierbaren organischen Masse bzw. der Menge an ATP. Bereits BALDWIN (1970) gaben einen Wert von 16,5 g Bakterientrockenmasse

je Mol ATP an. ROHR (1986) beschrieben einen linearen Anstieg des Mikroben-N-Flusses mit steigender Aufnahme an umsetzbarer Energie.

Dabei wies SMITH (1979) nicht nur auf die Bedeutung des Ammoniaks und der Energieversorgung für die mikrobielle Proteinsynthese hin, sondern auch auf essentielle Mineralstoffe, wie insbesondere Phosphor und Schwefel. Ebenso wurde bereits von MAENG et al. (1975) nicht nur der Stickstoff, sondern auch der Schwefel für das Wachstum der Pansenmikroorganismen als essentiell beschrieben.

Die Bedeutung von Ammoniak als Hauptstickstoffquelle für die Pansenbakterien zeigten sowohl in vitro- (BRYANT & ROBINSON 1963) als auch spätere in vivo-Untersuchungen bei Verwendung von markiertem Stickstoff ( $^{15}\text{N}$ ) (PILGRIM et al. 1970 und MATHISON & MILLIGAN 1971). Der direkte Einbau von  $\text{NH}_4^+$  bei verschiedenen Pansenbakterien wurde auch von AL-RABBAT et al. (1971) und NOLAN et al. (1976) nachgewiesen. SATTER & SLYTER (1974), SATTER & ROFFLER (1975), MEHREZ et al. (1977), HESPELL et al. (1979) und ERDMANN et al. (1986) führten in vitro- und in vivo-Versuche zur Bestimmung der optimalen Ammoniakkonzentration für die Mikroben durch. Die Werte lagen dabei zwischen 5 und 23 mg/100 ml. Das für die mikrobielle Proteinsynthese notwendige Ammoniak stammt nicht nur aus dem Abbau von Futterprotein, Peptiden oder Aminosäuren, sondern auch aus Harnstoff-N, der über den Speichel oder eine direkte Passage durch die Pansenwand in die Vormägen gelangt (VERCOE 1969 und s. Abb. 3). In einer Reihe von frühen in vitro- und in vivo-Versuchen wurde mit Hilfe von markiertem Stickstoff oder Kohlenstoff nach Einflussfaktoren auf den Eintrag an endogenem Ammoniak in den Pansen gesucht. So konnten bereits HOUPPT (1970) und THORNTON (1970) einen steigenden Ammoniaktransfer in den Pansen bei einer höheren Aufnahme an fermentierbarer organischer Masse und einen reduzierten Transfer bei höherer ruminaler Ammoniak-Konzentration feststellen. Der aus dem Blut stammende Harnstoff kann durch die am Epithel der Pansenwand haftenden ureolytischen Bakterien unmittelbar in Ammoniak umgewandelt werden. Dabei ist die Höhe des Rückflusses eng mit der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration korreliert (KENNEDY & MILLIGAN 1978b). In anderen Versuchen konnte ein Zusammenhang zwischen der Urease-

Aktivität sowie der Expression der Urease in den Bakterien und der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration gefunden werden (BUNTING et al. 1989a und b).

Der Umfang der mikrobiellen Proteinsynthese wird von einer Reihe von Faktoren beeinflusst. Die Höhe der Futteraufnahme ist einer der wichtigsten Einflussfaktoren auf den Mikroben-N-Fluss in den Darm (SNIFFEN & ROBINSON 1987). So wiesen auch HOGAN & WESTON (1971), ULYATT et al. (1975), CHAMBERLAIN et al. (1976) und FIRKINS et al. (1984) in ihren Arbeiten eine höhere mikrobielle Proteinsynthese bei höherer Futteraufnahme nach.

Dagegen stellten TAMMINGA et al. (1979) bei einem höheren Ernährungsniveau zwar einen höheren Stickstoff-Fluss zum Duodenum fest, jedoch war die mikrobielle Proteinsynthese vermutlich infolge eines abnehmenden Abbaus der Kohlenhydrate durch die erhöhte Passagerate reduziert. Der höhere N-Fluss dürfte in diesem Fall auf der größeren UDP-Menge infolge des reduzierten Proteinabbaus bei höherer Passagerate beruhen.

HERRERA-SALDA & HUBER (1989) und HERRERA-SALDANA et al. (1990) betonten die Bedeutung der Abstimmung der Energie- und Stickstoffbereitstellung im Pansen für eine höhere Synthese von Mikrobenprotein. So beschrieben RUSSEL et al. (1983) bei einer Ration mit Zulage von Kohlenhydraten eine proportionale Steigerung der  $\text{NH}_3$ -Akkumulation in den Pansenmikroorganismen. Ebenso konnten ALDRICH et al. (1993) die höchste mikrobielle Stickstoff-(MN)-passage zum Duodenum bei einem hohen Gehalt an abbaubarem Protein bei gleichzeitig höchstem Gehalt an abbaubaren Kohlenhydraten ermitteln. Dagegen stellten sie die niedrigste MN-Passage bei niedrigem Gehalt an abbaubarem Protein bei gleichzeitig niedrigstem Gehalt an abbaubaren Kohlenhydraten fest. Auch JOHNSON (1976) und OFFER et al. (1978) fanden bei einer Kombination aus schnell und langsamer abbaubaren Kohlenhydratquellen ein Maximum der mikrobiellen Syntheseleistung.

CHAMBERLAIN et al. (1976) und HAGEMEISTER et al. (1981) stellten bei hohem Krafffutteranteil in der Ration eine reduzierte mikrobielle Proteinsynthese fest, was auf eine Beeinträchtigung der mikrobiellen Fermentations- und Syntheseleistung bei niedrigem pH-Wert hinweist. Dies konnte allerdings von ROHR (1986) bei Krafffutteranteilen zwischen 16 und 60% nicht bestätigt werden. Umgekehrt stellte VAN

SOEST (1994) die Hypothese auf, dass eine Depression der mikrobiellen Syntheseleistung bei sehr hohen Rauhfutteranteilen durch ein höheres Bakterienrezykling im Pansen und ein langsames Wachstum bei gleichzeitig höherem energetischen Erhaltungsbedarf der Mikroben bedingt sein könnte.

Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese wird als die Menge an mikrobiellem Protein (g) bezogen auf die fermentierbare organische Masse beschrieben. Wie in Tabelle 1 angegeben, sind die Mittelwerte annähernd gleich, demgegenüber zeigen sich unterschiedliche Spannweiten.

Tabelle 1: Literaturangaben zur Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese

Quelle	Mittelwert (g MP/kg FOM)	Spanne (g MP/ kg FOM)
STERN et al. (1994)	181	69-266
LEBZIEN & VOIGT (1999)	188	63-313
NRC (2001)	186	75-338

Neben der verfügbaren Energie ist die Menge des im Pansen verfügbaren Stickstoffs eine entscheidende Größe für die mikrobielle Proteinsynthese. Schon MERCER et al. (1980) wiesen den höchsten mikrobiellen N-Fluss zum Duodenum bei einer Ration mit der höchsten ruminalen Abbaubarkeit nach. VEIRA et al. (1980), LU et al. (1982) und VEIRA & IVAN (1982) wiesen in einer Reihe von Versuchen zunächst bei schnell abbaubaren Proteinquellen eine höhere mikrobielle Proteinsynthese nach. Bei einem weiteren Anstieg der verfügbaren Stickstoffmenge im Pansen kam es dann zu einem drastischen Abfall der mikrobiellen Proteinsynthese. TAMMINGA et al. (1979) gaben als kritischen Wert 39 g verfügbarer N/kg T, bei mittlerer Löslichkeit des Proteins, an. In neueren, allerdings in vitro-, Untersuchungen von GRISWOLD et al. (2003) konnte sowohl bei Harnstoffinfusion, als auch bei einem Anstieg an ruminal abbaubarem Protein ein signifikanter Anstieg der mikrobiellen Proteinsynthese nachgewiesen werden. Gleichzeitig stieg auch die Effizienz der Synthese signifikant an.

MABJEESH et al. (1997) führten Versuche mit fistulierten Tieren durch, um den Effekt der ruminalen Abbaubarkeit des Proteins und der Nicht-Strukturkohlenhydrate auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese zu untersuchen. Die Verdaulichkeit des Proteins im Pansen war bei steigendem Gehalt an ruminal abbaubaren Nicht-Strukturkohlenhydraten höher. Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese erhöhte sich bei niedrigerer Konzentration an ruminal abbaubarem Protein. Somit hatte bei hohem RDP-Gehalt (73%) eine Supplementierung von ruminal abbaubaren Nicht-Strukturkohlenhydraten keinen positiven Effekt auf die Bakterienleistung bzw. die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese. Ein Minimum von 33% ruminal unabbau-barem Protein sollte in der Ration sein.

MCALLAN & SMITH (1984) untersuchten in älteren Arbeiten die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese bei unterschiedlicher ruminaler Abbaubarkeit des Proteins und behandlungsbedingter unterschiedlicher Verfügbarkeit der organischen Masse. Der Mikroben-N-Fluss stieg signifikant bei höherer Supplementierung von Harnstoff und Fischmehl. Ein Unterschied zwischen diesen beiden Supplementen wurde nicht festgestellt. Allerdings zeigten die Rationen mit dem ruminal weniger verfügbaren Fischmehl einen höheren Gesamt-N-Fluss, sicher aufgrund eines höheren „Bypass“-Protein-Anteils. Dagegen wurde die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese durch die Proteinsupplementierung nicht beeinflusst; jedoch zeigte sich eine höhere Effizienz bei den unbehandelten (nicht alkalisierten) Rationen.

Auch HOOVER & STOKES (1991) betrachteten die Ausgewogenheit zwischen der Verfügbarkeit der Kohlenhydraten und des Proteins für eine optimale ruminale Mikrobenleistung. Zusammen mit Versuchen von STOKES et al. (1991) fanden sie eine enge Korrelation ( $r=0,6$ ) zwischen der Höhe des aufgenommenen abbaubarem Proteins (DIP) und der mikrobiellen Proteinsynthese (g/Tag). Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese war dagegen nicht beeinflusst.

Die Synchronisation des Rohprotein- und Kohlenhydratabbaus im Pansen wird ebenfalls zunehmend als Voraussetzung für eine maximale Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese diskutiert. Darauf bezogene Berichte sind jedoch sehr widersprüchlich. Ebenso wurden die meisten Studien zur Synchronisation in vitro durchgeführt oder es wurden Rationsbestandteile gegeneinander ausgetauscht, wodurch es schwierig

wird, die durch die Futtermittel bedingten Einflüsse von möglichen Effekten der Synchronisation zu trennen (LEBZIEN et al. 2003). In Versuchen mit fistulierten Milchkühen konnten KASWARI et al. (2003) einen nichtsignifikanten Effekt der Fütterungssequenz auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen und somit der Stickstoffnutzung beobachten. Dieser Effekt war aber nicht mit dem Synchronisationsindex in Zusammenhang zu bringen. Dies bestätigte HENNING et al. (1993), SAUVANT & VAN MILGEN (1994) und RICHARDSON et al. (2000), die in ihren Arbeiten ebenfalls keinen Einfluss der Synchronisation auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese feststellten.

#### 2.3.2.3. *Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese*

Die Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese kann durch in vivo sowie in vitro Methoden erfolgen. In vitro-Methoden müssen jedoch zunächst an in vivo Methoden geeicht worden sein. Für die Quantifizierung des mikrobiellen Proteineintrages am Duodenum bedarf es in der Regel der Verwendung von Markersubstanzen. Dabei wird der Proteineintrag aus dem Marker-N-Verhältnis in isolierten Mikroben und dem Markergehalt in der Digesta errechnet. Dafür wurden eine Reihe von internen und externen Markern vorgeschlagen (s. Tabelle 2).

Tabelle 2: Marker zur Bestimmung der mikrobiellen Proteinsynthese

Marker	Literaturhinweis
Natürliche Marker	
2,6-Diaminopimelinsäure (DAP) oder	McALLAN & SMITH 1972
Ribonukleinsäure (RNS)	LING & BUTTERY 1978
D-Alanin (D-ALA)	GARRETT et al. 1987
Einzelne Purin- und Pyrimidinbasen	SCHELLING et al. 1982 SCHELLING & BYERS 1984
Isotope (nach Infusion in den Pansen in mikrobiellem Protein eingebaut)	
<sup>15</sup> N	MATHISON & MILLIGAN 1971 SIDDONS et al. 1985 FIRKINS et al. 1987
<sup>35</sup> S	BEEVER et al. 1974
<sup>32</sup> P	DEMEYER & van NEVEL 1976

Ein anderes Verfahren, die Aminosäureprofil (ASP)-methode, wird von EVANS et al. (1975) und van BRUCHEM et al. (1985) vorgeschlagen. Die Ausscheidung von Purinderivaten im Harn (CHEN et al. 1990; PUCHALA & KULASEK 1991) stellt eine nichtinvasive Markermethode dar.

In einer ganzen Reihe von Arbeiten wurden die verschiedenen Marker direkt verglichen (McMENIMAN 1975; WALKER & Elliot 1972; KENNEDY & MILLIGAN 1978; LING & BUTTERY 1978; TAMMINGA 1978; THEURER 1982; McALLEN & SMITH 1984; McALLEN et al. 1986; DAWSON et al. 1988 und QUIGLEY & SCHWAB 1988). In einer von LEBZIEN & PAUL (1997) entwickelten Methode kann mit Hilfe der Nah-Infrarot-Spektroskopie der Anteil des Mikrobenproteins in Chymusproben ermittelt werden. Dafür wurden zunächst Chymusproben an den aus anderen Versuchen gewonnenen <sup>15</sup>N-Chymusproben geeicht.

#### 2.3.2.4. *Größen für den Stickstoff-Bedarf der Pansenmikroorganismen*

Damit eine Limitierung der mikrobiellen Proteinsynthese durch die Verfügbarkeit von Stickstoff (N) ausgeschlossen werden kann, werden in den Proteinbewertungssystemen verschiedener Länder Kenngrößen für die Stickstoffversorgung der Mikroben berücksichtigt (VERITÉ et al. 1979 und TAMMINGA et al. 1994).

In Deutschland ist es das Kriterium der ruminalen Stickstoff-Bilanz (RNB) (GfE, 1997). Anhand der RNB kann eine Bewertung der N-Versorgung der Pansenmikroben vorgenommen werden, die neben der Energieversorgung maßgeblichen Einfluss auf die Höhe des gebildeten mikrobiellen Proteins besitzt (s. Abschnitt 2.3.2.2.). Dabei erfolgt die Schätzung der RNB durch Differenzbildung zwischen Futterrohprotein-gehalt und nXP-Menge, geteilt durch 6,25 (=N-Basis).

Im französischen PDI-System (INRA 1989) wird die mögliche Mikrobenproteinmenge sowohl in Bezug auf die Energieversorgung (PDIME), als auch auf die Versorgung mit Stickstoff bzw. dem ruminal abbaubarem Protein (RDP) (PDIMN) getrennt berechnet.

Das holländische DVE-System (CVB 1991 und TAMMINGA et al. 1994) wurde aufbauend auf das PDI-System entwickelt und entspricht diesem daher in vielen Bereichen. Im Gegensatz zum PDI-System wird die Versorgung des Wirtstieres mit DVE nicht getrennt in Abhängigkeit vom Stickstoff-Bedarf der Pansenmikroorganismen berechnet. Sie weisen aber einen OEB-Wert aus (eine leicht positive N-Bilanz im Pansen in der Rationsgestaltung). Dieser errechnet sich aus der Differenz zwischen möglicher Mikrobenproteinsynthese auf Grund der N- und Energieversorgung.

Im britischen MP-System (AFRC 1993) findet sich die für die Pansenmikroben effektiv zur Verfügung stehende Menge an abbaubarem Protein (ERDP). Die Energieversorgung für die Pansenmikroben wird ausgedrückt in fermentierbarer umsetzbarer Energie (FME).

Bei der Berechnung des Stickstoff-Angebotes für die Pansenmikroben wird im DVE- und MP-System rezirkulierender Stickstoff in Form des rumino-hepatischen Kreislaufes nicht berücksichtigt. Dagegen findet die N-Rezirkulation im PDI- und nXP-System

Beachtung, jedoch bestehen wesentliche Unterschiede in der Höhe. In Abhängigkeit von der Energieversorgung (PDIE-PDI) wird im PDI-System von einer variablen Re-zirkulationsmenge zwischen 0 und etwa 9% ausgegangen. Dagegen können die Pansenmikroben im deutschen nXP-System ihren Stickstoffbedarf in einem deutlich höheren Anteil (bis zu 20%) aus rezirkulierendem Stickstoff decken. Damit ergeben sich auch in der ruminalen Stickstoffbilanz große Differenzen zwischen den Maßstäben. Die unterschiedlichen Angaben über die rezirkulierende Stickstoffmenge sind insbesondere in den methodischen Problemen bei der Bestimmung dieser Größe begründet.

#### **2.4. Intermediärer N-Metabolismus und N-Exkretion**

Für die mikrobielle Proteinsynthese nicht genutztes Ammoniak kann in geringem Umfang in den Darmtrakt gelangen. Der größte Teil allerdings wird über das Blut als Harnstoff letztlich über den Harn oder in geringerem Umfang über die Milch ausgeschieden.

Auf die Beeinflussung der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration wurde bereits im Abschnitt 2.3.2.1. eingegangen. Die  $\text{NH}_3$ -N-Konzentration im Pansen steht infolge einfacher Diffusion durch die Pansenwand in enger Beziehung mit dem Blut (s. 2.3.2.1. und Abb. 3). In einer Vielzahl von Arbeiten findet insbesondere die Energieversorgung und ihr Einfluss auf die Höhe des Blutharnstoff-N-Gehaltes in Abhängigkeit der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration Beachtung. So stellten ARIELI et al. (1996) eine stärkere Abhängigkeit der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration von der Menge an fermentierbarer organischer Masse als von der Menge abbaubaren Proteins fest. Ebenso fanden sie den höchsten Blutharnstoffgehalt bei einem hohen Gehalt an ruminal abbaubarem Protein, wenn der Gehalt an fermentierbarer organischer Masse gleichzeitig niedrig war. Auch MABJEESH et al. (1997) ermittelten die höchste ruminale  $\text{NH}_3$ -N-Konzentration und den höchsten Blutharnstoff-N-Gehalt bei den Kühen, die den höchsten Gehalt an abbaubarem Protein und die niedrigste Menge an fermentierbarer organischer Masse in der Ration aufwiesen.

OLTNER & WIKTORSSON (19983) und OLTNER et al. (1985) signifikante Effekte auf den Blutharnstoff-N-Gehalt je nach Protein: Energie-Verhältnis. In einer neuen Arbeit wurden Milchkühe bei isoenergetischen Rationen mit unterschiedlichen Verhältnissen zwischen „effektiv ruminal abbaubarem Protein“ (ERDP) und „fermentierbarer umsetzbarer Energie“ (FME) gefüttert. Hierbei zeigte sich der signifikant höchste Blutharnstoffgehalt bei einem Überschuss an ERDP gegenüber FME (CABRITA et al. 2003).

Der Blutharnstoffgehalt ist nicht nur als ein Indikator für die Protein- bzw. Stickstoffversorgung und –nutzung durch die Tiere zu sehen (s. 2.3.2.1.), sondern ist auch ein Zeichen für eine hohe Leberaktivität und letztlich –belastung, da die Harnstoffsynthese in der Leber durch die Enzyme des Harnstoffzyklus (s. Anhang 1) erfolgt. Dabei spielen die Glutaminsynthetase und die Glutamatdehydrogenase (GLDH) eine maßgebliche Rolle (ENGELHARDT & BREVES 2000). Die Stickstoffatome für die Harnstoffsynthese stammen entweder von der Aminosäure Aspartat oder direkt vom Ammoniak, welches aus Glutamin durch die Glutaminase freigesetzt wurde. Die Höhe der Konzentrationen an einigen Leberenzymen konnten in Versuchen von KAUFMANN et al. (1982) mit der Höhe des ruminal abbaubaren Proteins und darüber mit der  $\text{NH}_3$ -N-Konzentration im Pansen und dem Blutharnstoffgehalt in Zusammenhang gebracht werden. In Verbindung mit einer reduzierten  $\text{NH}_3$ -Anflutung aus der Ration mit geschütztem Protein konnten bei signifikant geringerem Blutharnstoffgehalt die niedrigste Konzentration an GLDH nachgewiesen werden. Dagegen blieben andere Parameter, wie Aspartat-Amino-Transferase oder auch Bilirubin unbeeinflusst. Die Glutamatdehydrogenase gilt aber auch als sehr empfindlich und ihre Aktivität steigt z.T., ohne dass klinische oder lichtmikroskopische Veränderungen des Leberparenchyms nachweisbar wären (KRAFT & DÜRR 1999).

Der aus dem Ammoniak stammende und im Blut nachweisbare Harnstoff wird, soweit er nicht rezirkuliert und wieder genutzt wird, über den Harn ausgeschieden. Neben diesem Ausscheidungsweg wird bei laktierenden Milchkühen auch ein Teil über die Milch abgegeben. So fanden MADSEN (1985) und ROPSTAD et al. (1989) einen

engen Zusammenhang zwischen der Konzentration an pansenverfügbarem Stickstoff und dem Milchharnstoffgehalt. Die enge Korrelation zwischen dem Gehalt an Harnstoff im Blutserum und dem Milchharnstoffgehalt ist auch in einer Vielzahl anderer Arbeiten dargestellt worden, so z.B. bereits bei IDE et al. (1966), OLTNER & WIKTORSSON (1983), OLTNER et al. (1985), CISZUK et al. (1993) und BRODERICK & CLAYTON (1997).

Bei Versuchen mit Milchkühen von PIATKOWSKI et al. (1981) führte eine Erhöhung des XP-Gehalt um ca. 4,6 Prozent zu einer annähernden Verdopplung der Harnstoffkonzentration im Blut sowie in der Milch. Eine exzessive Proteinfütterung resultierte auch bei DePETERS & CANT (1992) und BRODERICK & CLAYTON (1997) in einer deutlichen Erhöhung des Milchharnstoffgehaltes.

Bei der Interpretation von Harnstoffuntersuchungsergebnissen muss allerdings nicht nur die Herkunft des Substrates (Blut, Milch) KAUFMANN et al. (1982), sondern auch der Zeitpunkt der Probennahme berücksichtigt werden GUSTAFSSON & PALMQUIST (1993).

HOF et al. (1997) und SCHEPERS & MEIJER (1998) fanden einen relativ gut übereinstimmenden Harnstoffgehalt in der Morgen- und Abendmilch, allerdings bei Tieren mit der Möglichkeit einer kontinuierlichen Futteraufnahme. Dagegen beschreiben BRODERICK & CLAYTON (1997) eine enge Korrelation zwischen unterschiedlichen Blutharnstoffgehalten und den sich unterscheidenden Harnstoffgehalten im Morgen- und Abendgemelk. Weiterhin beobachteten PETERSON et al. (2004) eine Abhängigkeit des ermittelten Milchharnstoffgehaltes von dem jeweils eingesetzten Analysengerät.

In der Literatur wird noch eine Vielzahl von weiteren Einflussfaktoren auf den Milchharnstoffgehalt genannt (s. Tabelle 3).

Tabelle 3: Einflussfaktoren auf den Milchharnstoffgehalt

Einflussfaktor	Literaturhinweis
Rasse	KAUFFMANN & ST PIERRE 1999 RODRIGUEZ et al. 1997
Trächtigkeit	BRODERICK et al. 1997
Körpergewicht	KOHN et al. 2001
Laktationsstadium	SPICER et al. 2000
Milchleistung und Inhaltsstoffe sowie	VERITÉ et al. 1996
Futtermittelaufnahme, Laktationszahl und Jahreszeit	FAVERDIN & VERITÉ 1998 WU & SATTER 2000 GODDEN et al. 2001 HOJMAN et al. 2004

Einen signifikanten Einfluss des Rohproteingehaltes in der Ration, der Milchleistung, FCM-Menge und des Milchfett- und -eiweißgehaltes auf den Milchharnstoffgehalt fanden WU & SATTER (2000) lediglich in der frühen Laktation. Der Fütterungszeitpunkt hatte dagegen keinen Einfluss auf den Milchharnstoffgehalt (STEINWIDDER et al. 1998).

OLTNER & WIKTORSSON (1993) wiesen darauf hin, dass der Milchharnstoffgehalt enger mit dem Verhältnis des Proteins zur Energie korreliert ist als mit der absoluten Proteinaufnahme. Auch EBERSDORBLER & ZUCKER (1980), KIRCHGESSNER et al. (1986) und SPOHR & WIESNER (1991) stellten den Milchharnstoffgehalt als einen guten Indikator für das Protein-Energie-Verhältnis in der Ration dar. Durch die freie und schnelle Diffusion durch die Zellmembranen innerhalb der Milchdrüse stellt der Milchharnstoff eine für den Blutharnstoffgehalt repräsentative Probe bei einfacher und nichtinvasiver Probenentnahme dar (HARMEYER & MARTENS 1980; REFSDAL 1983 und HAAG 1988).

STEINWIDDER et al. (1998) führten Untersuchungen mit unterschiedlichen ruminalen Stickstoffbilanzen durch. Ebenso wie KRIETE et al. (2004) fanden sie bei positiver ruminaler Stickstoffbilanz einen erhöhten Milchharnstoffgehalt. Allerdings konnten STEINWIDDER et al. (1998) bei ausschließlicher Änderung der Energieversorgung und gleicher ruminaler Stickstoffbilanz keinen signifikanten Unterschied im Milchharnstoffgehalt feststellen. Somit ist der Milchharnstoffgehalt ihrer Meinung nach weniger ein direkter Parameter für die Protein- und Energieversorgung des Wirtstieres (KIRCHGESSNER & WINDISCH, 1989); vielmehr ist dieser ein Indikator für die N-Versorgung der Pansenmikroben. Die GfE (2001) stellt eine Beziehung zwischen dem Milchharnstoffgehalt und der ruminalen Stickstoffbilanz her. Dabei weist die GfE darauf hin, dass bei einem Milchharnstoffgehalt über 300 mg/ kg Milch und einer RNB von über +50 g/Tag, eine Änderung der Ration erfolgen sollte.

Über die Wirkung eines höheren Blut- oder Milchharnstoffgehaltes, insbesondere auf die Fertilität gibt es unterschiedliche Aussagen. Arbeiten von FERGUSON et al. (1993) und RAJALA-SCHULTZ et al. (2001) belegen einen negativen Effekt auf die Fruchtbarkeit. Dagegen fand eine andere Autorengruppe (CAROLL et al. 1988 und GODDEN et al. 2001) keine negative Beziehung zwischen einem hohen Milchharnstoffgehalt und der Fertilität.

Der Hauptausscheidungsweg des aus dem Pansen stammenden und zu Harnstoff umgebauten Stickstoffs erfolgt als polares, ungeladenes Harnstoffmolekül über die Niere (ENGELHARDT & BREVES 2000). Eine Reihe von Autoren stellte in ihren Untersuchungen fest, dass sich bei steigender N-Aufnahme lediglich die Harn-N-Ausscheidung signifikant erhöhte (TELLER & GODEAU 1984; BUNTING et al. 1989b; SUSMEL et al. 1995; PUTNAM & VARGA 1998 und MOORBY & THEOBALD 1999). Auch bei KRÖBER et al. (2000) spiegelten sich unterschiedliche Stickstoff-Aufnahmen in der Total- und Harn-N-Exkretion sowie in dem Anteil des Harn-N am Total-N wider.

Dagegen fanden KAUFFMANN et al. (1999), HOFFMANN et al. (2001) und MONTEILS et al. (2002) neben einem Anstieg der Urin- auch eine erhöhte Kot-N-Ausscheidung. Allerdings zeigten ihre Versuche nicht nur Unterschiede in der N-

Aufnahme, sondern auch bezüglich der Rationskomponenten und insbesondere der Energieaufnahmen. KEBREAB et al. (2002) stellten durch Auswertung mehrerer N-Bilanz-Versuche fest, dass nicht nur die Höhe der N-Aufnahme, sondern auch wieder die Energieversorgung einen Einfluss auf die Stickstoffausscheidung mit dem Kot und Urin hatte. Bei steigender N-Aufnahme und Energie als limitierendem Faktor konnte der überschüssige Stickstoff nicht mehr genutzt werden und gelangte über das Blut in den Harn. Es zeigte sich somit eine höhere Harn-N-Ausscheidung. Dagegen wurde bei genügend Energie mehr Stickstoff in die Mikroben eingebunden, so dass es zu einer erhöhten Stickstoffausscheidung mit dem Kot kam. BRODERICK (2003) ermittelte bei steigendem Rohproteingehalt in der Ration eine erhöhte Harn-N-Ausscheidung. Demgegenüber führte eine Erhöhung der Energiezufuhr zu einer effizienteren N-Nutzung und somit zu einer verminderten Stickstoff-Ausscheidung mit dem Harn. Bereits KOHN et al. (1997) beschrieben die Möglichkeit, durch eine Fütterungsänderung die N-Ausscheidungsmenge bzw. den Umwelteintrag von N zu reduzieren. In Versuchen von WRIGHT et al. (1998) und MOSCARDINI et al. (1998) mit unterschiedlichen Gehalten an unabgebautem Futterprotein (UDP) konnte bei höherem UDP-Anteil eine signifikant reduzierte Kot- und Harn-N-Ausscheidung erreicht werden. Auch CASTILLO et al. (2001) stellten durch eine Reduzierung der Proteinabbaubarkeit der Supplemente eine verminderte Total-N-Ausscheidung sowie einen geringeren Anteil von Harn-N an der Ausscheidung fest.

## 2.5. Ableitung der Aufgabenstellung

Die Proteinversorgung der Milchkuh basiert in erheblichem Umfang auf dem im Pansen gebildeten mikrobiellen Rohprotein, das im deutschen Proteinbewertungssystem (GfE, 1997) in das nutzbare Rohprotein am Duodenum (nXP) einfließt. In das neue Proteinbewertungssystem gehen sowohl der Bedarf der Milchkühe an absorbierbaren Aminosäuren am Dünndarm, als auch der N-Bedarf der Pansenmikroorganismen ein. Insbesondere bei Hochleistungskühen wird jedoch ein steigender Anteil an un- abgebautem Futterprotein in der Ration angestrebt, da eine Erhöhung der mikrobiellen Proteinsynthese wegen einer Begrenzung der Energieaufnahme nur beschränkt möglich ist. Dadurch kann es zu einer Vernachlässigung der Beachtung des N-Bedarfs der Pansenmikroben kommen, so dass die Gefahr einer unzureichenden Stickstoff-Versorgung der Mikroorganismen besteht.

Ein Mangel an pansenverfügbarem Stickstoff (negative ruminale Stickstoffbilanz) führt jedoch zu einer Beeinträchtigung der mikrobiellen Proteinsynthese sowie zu reduzierten Fermentationsleistungen der Pansenmikroorganismen. Andererseits wird überschüssiger Stickstoff (positive ruminale Stickstoffbilanz) nicht mehr genutzt und mit dem Harn ausgeschieden, was sich unter den Aspekten der Umwelt- und Stoffwechselbelastung des Tieres sowie aus ökonomischer Sicht als unerwünscht darstellt. Es gilt somit eine ruminale Stickstoffbilanz anzustreben, die so niedrig wie möglich ist, ohne jedoch einen negativen Einfluss auf die Abbau- und Syntheseleistungen der Pansenmikroorganismen auszuüben.

Über die Höhe des im Pansen benötigten Stickstoffs (RNB) sowie entsprechende Auswirkungen auf die Mikroorganismen und ihre Abbau- und Syntheseleistungen liegen kaum Untersuchungen vor.

Deshalb sollten in Untersuchungen an fistulierten Milchkühen Beiträge zur Beantwortung folgender Fragen geleistet werden:

- 1) Welche Auswirkungen hat eine unterschiedliche Versorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff auf das Pansenmilieu (pH-Wert, flüchtige Fettsäuren und Ammoniak-N-Konzentration)?
- 2) Wie wirken sich unterschiedliche ruminale Stickstoffbilanzen auf die mikrobiellen Abbau- und Syntheseprozesse aus?
- 3) Sind die Harnstoff- bzw. Stickstoff-Gehalte in Milch, Blut, Kot und/oder Harn als Indikatoren für die Stickstoffversorgung der Pansenmikroorganismen geeignet?

### **3. MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1. Fütterungsversuch an fistulierten Milchkühen**

Zur Untersuchung des Einflusses der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB) auf Pansenfermentation, mikrobielle Proteinsynthese, nXP-Menge am Darm sowie der Stickstoffausscheidung wurde ein Fütterungsversuch an doppelt fistulierten Milchkühen (s. Tabelle 4) auf der Versuchsstation der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) in Braunschweig durchgeführt.

Hierbei sollte unter den Bedingungen einer im Mittel bedarfsgerechten NEL- und nXP-Versorgung die Ration konstant bleiben (RNB -0,6 g/MJ ME) und die RNB durch Harnstoffzulagen gesteigert werden (RNB -0,3 g/MJ ME; 0 g/MJ ME und +0,3 g/MJ ME). Zu diesem Zweck wurden vier unterschiedlichen Krafftuttermischungen (Tabelle 6) hergestellt, wobei die Ausgangsmischung keinen Harnstoff und die anderen steigende Mengen an Harnstoff enthielten. Als Grundfutter wurde Maissilage gewählt, da sie einen negativen Beitrag (DLG-Futterwerttabellen für Wiederkäuer, 1997) zur ruminalen Stickstoffbilanz leistet und dadurch negative Stickstoffbilanzen bis -0,6 g/MJ ME erreicht werden konnten. Zudem unterliegen die Nährstoffgehalte in den Maissilagen geringeren Schwankungen und lassen dadurch eine annähernd sichere Kalkulation bereits zu Versuchsbeginn zu. Das Grund- und Krafftutterverhältnis der Ration betrug etwa 50:50, so dass die Tiere ca. 7,3 kg T Maissilage und ca. 7,3 kg T Krafftutter erhielten.

##### 3.1.1. Versuchsaufbau

In dem aus vier Perioden zusammengesetzten, einfaktoriell angelegten Versuch wurden in den ersten drei Perioden jeweils 7 und in der vierten Periode durch Ausfall zweier Tiere (s.4.1.) 5 Versuchskühe eingesetzt. Beide Tiere fielen ungünstigerweise in der gleichen Behandlung aus, so dass die Versorgungsstufe -0.3 lediglich mit fünf Tieren ausgewertet werden konnte.

Dabei sollte jede Kuh während der vier Versuchsdurchläufe jeweils einmal jede der vier Varianten erhalten. Tabelle 4 zeigt das Verteilungsschema der Versuchstiere innerhalb der Fütterungsgruppen für den Stoffwechselversuch.

Tabelle 4 : Verteilungsschema der fistulierten Milchkühen innerhalb der Fütterungsgruppen (n= 7, bzw.5\*)

Versuchsperiode Datum	Behandlung (g RNB/MJ ME)			
	-0.6*	-0.3**	0*	+0.3*
1	Falke***	Gute	Elschen Gerri	Reila Gesche Rabina
2	Reila Elschen Gute	Falke Gesche	Rabina	Gerri
3	Gerri Gesche	Rabina Reila	Falke Gute	Elschen
4	Rabina		Reila Gesche	Gute Falke

(\*n=7, \*\*n=5, \*\*\* Elschen, Falke, Gerri, Gesche, Gute, Rabina, Reila: Namen der eingesetzten Versuchskühe)

Jede Versuchsperiode setzte sich aus einer dreiwöchigen Anpassungszeit und einer sich anschließenden fünftägigen Darmsaftsammelperiode zusammen. In der dritten Adaptationswoche wurden an jeweils drei aufeinander folgenden Tagen Pansensaftproben zur Charakterisierung des Pansenmilieus gezogen. Außerdem wurde in dieser Zeit von jedem Versuchstier an fünf Tagen eine Blutprobe aus der Vena coccygea m. entnommen. Während der Darmsaftsammelperiode wurden über fünf Tage alle zwei Stunden Duodenalchymusproben gesammelt und eine aliquote Menge zu

Tagesproben gepoolt. In dieser letzten Versuchswoche wurden weiterhin neben Milch- und Futtermittelproben von jedem Tier einmalig eine Kot- und Harnprobe gewonnen. In Abbildung 4 ist die zeitliche Abfolge der Probengewinnung dargestellt.

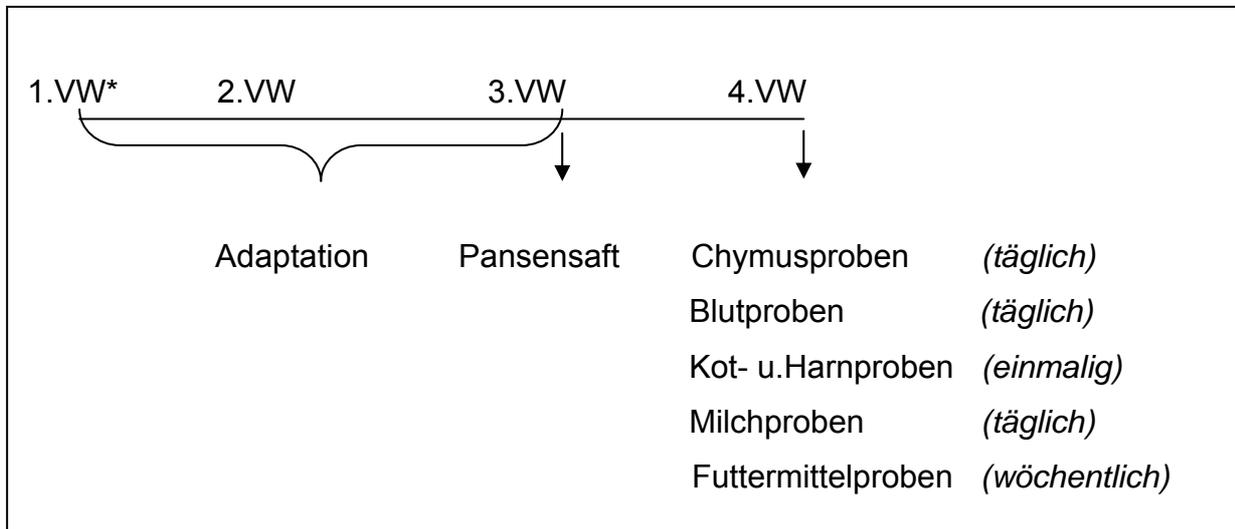


Abb. 4: Zeitliche Abfolge der Probennahmen während des Stoffwechselversuchs (\*VW= Versuchswoche)

Die Erfassung der Milchmengen erfolgte während der Darmsaftsammelperiode täglich aus dem Morgen- und Abendgemelk (5.30 Uhr und 16.00 Uhr). In jeder gewonnenen Milchprobe wurden die Inhaltsstoffe (Fett, Eiweiß, Laktose, Harnstoff) und die somatische Zellzahl bestimmt.

Vor Beginn der ersten Versuchsperiode und nach Beendigung der letzten wurden die Körpergewichte der Tiere ermittelt.

### 3.1.2. Versuchstiere, Haltung und Fütterung

In den ersten drei Versuchsdurchgängen wurden sieben und in dem letzten Durchgang fünf laktierende Milchkühe der Rasse „Deutsche Holstein“ auf die vier Fütterungsgruppen aufgeteilt (s. 3.1.1. und 4.1.). Die Tiere waren mit einer T-Kanüle (i.D. 2 cm) im proximalen Duodenum ca. 30 cm hinter dem Labmagenausgang und einer Kanüle im dorsalen Pansensack (i.D. 10 cm) ausgestattet. Die im Versuch stehenden

Tiere hatten ein mittleres Körpergewicht von 562 kg ( $\pm 50,1$ ) (Einzeltiergewichte s. Anhang 4) und befanden sich in Laktation.

Aufgrund der zahlenmäßig nur beschränkt zur Verfügung stehenden Tiere war es nicht möglich, nur Tiere im gleichen Laktationsstadium bzw. mit gleichem Leistungsniveau auszuwählen. Zu Versuchsbeginn lag die mittlere fettkorrigierte Milchleistung der Tiere bei  $30,6 \pm 8,1$  kg FCM/Tier und Tag. Allerdings schwankte die Leistung der Tiere in einem Bereich von 20,9 kg FCM bis zu 43,7 kg FCM (Tabelle 5).

Tabelle 5: Tägliche Milchleistung und Milchinhaltsstoffe der Milchkühe zu Versuchsbeginn

<b>Tier</b>	<b>Milch (kg)</b>	<b>Fett (%)</b>	<b>Protein (%)</b>	<b>Laktose (%)</b>	<b>FCM (kg)*</b>
Elschen	24,2	2,91	3,13	4,60	20,9
Falke	21,4	4,74	3,55	4,68	23,6
Gerri	35,0	3,83	2,83	4,68	34,1
Gesche	32,2	4,69	2,80	4,58	35,6
Gute	27,6	5,11	3,17	4,84	32,2
Rabina	34,8	5,75	2,86	4,62	43,7
Reila	28,6	2,98	2,89	4,57	24,2
<b>x <math>\pm</math> s</b>	<b>29,1 <math>\pm</math>5,2</b>	<b>4,29 <math>\pm</math>1,08</b>	<b>3,03 <math>\pm</math>0,27</b>	<b>4,65 <math>\pm</math>0,09</b>	<b>30,6 <math>\pm</math>8,1</b>

\*FCM: fat corrected milk = ((Fett % 0,15) + 0,4) \* Milchmenge (kg)

Bis zum Ende des vierten Versuchsdurchgangs reduzierte sich die mittlere Milchleistung auf  $23,2 \pm 5,5$  kg FCM/Tier und Tag.

Die Versuchskühe waren in strohloser Anbindehaltung mit freiem Zugang zur Tränke aufgestallt.

Die Tiere sollten trotz unterschiedlicher Leistungsniveaus zumindest im Mittel bedarfsgerecht mit NEL und nXP versorgt werden, um die Einflüsse der unterschiedlichen ruminalen Stickstoffbilanz beurteilen zu können.

Als Grundfutter erhielten die Tiere Maissilage auf zwei Portionen verteilt (5.30 und 15.30Uhr) sowie 200 g einer Vitamin - Mineralstoffmischung (CIMBRIA 1101, s. An-

hang 3). Den Tieren wurden die vier Krafftuttermischungen I, II, III und IV (s. Tabelle 6) in vier gleichen Einzelgaben je Tag (5.30, 8.30, 15.30 und 17.30 Uhr) verabreicht. Die täglich vorgelegte Ration bestand aus 7,3 kg Trockensubstanz Maissilage und 7,3 kg Trockensubstanz Krafftutter. Somit lag das Grundfutter-Krafftutter-Verhältnis auf T-Basis bei 50:50.

Nach dem gleitenden Mittel aus den jeweils letzten drei der wöchentlich dreimal bestimmten Trockensubstanzgehalte erfolgte die Einwaage der Maissilage.

In der Tabelle 6 ist die Zusammensetzung der vier eingesetzten Krafftuttermischungen aufgeführt.

Tabelle 6: Zusammensetzung der Krafftuttermischungen

Bestandteile (%)	I	II	III	IV
Trockenschnitzel	30,00	29,60	29,20	28,79
Gerste	23,00	22,70	22,38	22,10
Weizen	23,00	22,70	22,38	22,10
Mais	19,00	18,75	18,50	18,23
Sojaextraktionsschrot	4,00	3,95	3,90	3,80
Mineralstoff	1,00	0,99	0,97	0,96
Harnstoff	0,00	1,31	2,67	4,02

Durch die tägliche Trockensubstanzaufnahme von ca. 14,6 kg war es nicht möglich, bei den in der Milchleistung stark variierenden Tieren den Energie- und Nährstoffbedarf jedes einzelnen Tieres zu decken (s. Anhänge 6 und 7). Da jedoch im Versuch alle Tiere die gleiche tägliche Menge an Trockensubstanz aufnehmen sollten, wurde die Trockensubstanzvorlage an der „aufnahmeschwächsten“ Kuh ausgerichtet.

Während der fünftägigen Chymussammlung wurden täglich ca. 300 g der Maissilage als Probe entnommen und über die fünf Tage gepoolt. Am Ende der jeweiligen Darmsaftsammelwoche wurden die entsprechenden Sammelproben gefriergetrock-

net und nach Bestimmung des Trockensubstanzgehaltes für die WEENDER-Analytik aufbereitet.

Von jeder der vier Kraftfuttermischungen wurde ebenfalls während der ersten Versuchsperiode eine repräsentative Probe für die WEENDER-Analytik entnommen und aufgearbeitet. In den darauf folgenden drei Versuchsperioden wurde von jeder Kraftfuttermischung zur Kontrolle der Gehalt an Stickstoff bestimmt, um eventuelle Mischungs- bzw. Entmischungsfehler aufdecken und entsprechend in die Auswertungen einbeziehen zu können.

Die Rohnährstoffgehalte sowohl der Maissilage, als auch der vier Kraftfuttermischungen sind in Abschnitt 4.2. (Tabelle 7 und 8) aufgeführt.

Anfallende Futterrückwaagen der Versuchstiere (s. Anhang 8) wurden täglich erfasst, bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  eingefroren und später zu einer Wochensammelprobe zusammengefasst und ebenfalls nach Bestimmung des Trockensubstanzgehaltes der WEENDER-Analytik zugeführt.

### 3.1.3. Blutanalysen zur Beurteilung der Stoffwechselsituation

Zur Beurteilung des Stoffwechsels der Tiere unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Stickstoffversorgung wurden in der dritten Woche einer jeden Versuchsperiode Blutproben aus der Vena coccygea m. über fünf Tage von jedem Tier gezogen. Die Entnahme der Blutproben erfolgte immer annähernd zur gleichen Zeit (ca. um 9.30 Uhr), um vergleichbare Werte über die gesamte Versuchsdauer zu erhalten.

In den Proben wurde der Harnstoffgehalt und in jeder Periode von jedem Tier in einer Serumprobe repräsentativ die leberspezifischen Enzyme GLDH, AST und  $\gamma$ -GT sowie der Cholesteringehalt bestimmt, um somit Aussagen über eine mögliche Belastung der Tiere durch die unterschiedlich hohe Stickstoffversorgung treffen zu können.

### 3.1.4. Beschreibung der Methoden

#### *3.1.4.1. Pansenphysiologische Parameter*

Nach einer zweiwöchigen Adaptationszeit wurden in der darauf folgenden Woche zur Charakterisierung des Pansensaftmilieus an drei aufeinander folgenden Tagen per fistulam Pansensaftproben von jeweils einem Tier aus jeder Variante gewonnen, da die Kapazität des Labors nicht mehr Proben gleichzeitig zulies. An dem jeweils ersten Entnahmetag wurde der Pansensaft kurz vor 5.30 sowie um 6.00, 6.30, 7.00, 7.30, 8.30 und 10.30 Uhr entnommen und an den beiden darauf folgenden Tagen lediglich drei Stunden nach Beginn der Morgenfütterung (8.30 Uhr).

Die Probengewinnung erfolgte mit einer Metallsonde aus dem ventralen Pansensack. Anschließend wurde mittels Glaselektrode der pH-Wert und im Überstand des abzentrifugierten Pansensafts der Ammoniak-N-Gehalt ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) nach einer modifizierten Conway-Methode (VOIGT & STEGER 1967) bestimmt.

In den Proben, die drei Stunden nach Beginn der Morgenfütterung entnommen worden waren, erfolgte die Analyse der flüchtigen Fettsäuren. Dazu wurde der Pansensaft 5 Minuten bei 6480 x g (Varifuge GL) zentrifugiert, ein Aliquot von 10 ml entnommen, mit 1,5 ml 25% Meta-Phosphorsäure und 0,5 ml Ameisensäure versetzt und anschließend erneut für 20 Minuten bei 6480 x g (Erdbeschleunigung) zentrifugiert. Danach erfolgte eine gaschromatografische Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren (s. 3.2.4.).

### *3.1.4.2. Untersuchungen zum Nährstofffluss am Duodenum*

#### *3.1.4.2.1. Herstellung und Verabreichung des Markers ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ )*

Zur Erfassung der das Duodenum erreichenden Nährstoffmengen wurde den Versuchstieren ruminal ein  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ -Marker appliziert.

Die Herstellung erfolgte aus 30 kg Weizenmehl (Typ 550/68), 7,5 kg Chrom(III)oxid ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) und 375 g Aluminiumsulfat-Hydrat ( $\text{Al}_2[\text{SO}_4]_3 \times \text{H}_2\text{O}$ ). Diese Zutaten wurden in einem Mischer intensiv vermischt und unter Wasserzusatz zu einem zähen, hefeartigähnlichen Brei verarbeitet. Nach der Trocknung bei  $60^\circ\text{C}$  wurde die Markermasse auf 3 mm vermahlen. Die für den Versuch benötigten Applikationsmengen an Chrommarker wurden in Rundfilter eingewogen und mit Tesafilmstreifen verschlossen.

Zehn Tage vor Beginn der eigentlichen Chymussammelperiode wurden den Versuchstieren zweimal am Tag (5.45 und 17.45 Uhr) je 50 g Marker direkt in den Pansen durch die Pansenfistel verabreicht und mit Hilfe eines Kunststoffstabes gut eingemischt. Einen Tag vor Beginn der Sammelperiode wurden je 25 g Marker viermal pro Tag (5.45, 11.45., 17.45 und 23.45 Uhr) appliziert.

Herstellung, Verabreichung und Bestimmung des Chrommarkers erfolgten in Anlehnung an ROHR et al. (1979).

#### *3.1.4.2.2. Gewinnung und Aufbereitung der Chymusproben*

Von jedem Versuchstier wurde während der Darmsaftsammelperiode alle zwei Stunden (12x täglich über fünf Tage) 4 x ca. 100 ml Chymus über die Duodenalfistel entnommen. Sofort nach der Entnahme erfolgte die Erfassung des pH-Werts in den vier Proben mit einer Glaselektrode und die Überführung der Probe (ca. 100 ml) mit dem geringsten pH-Wert und den damit niedrigsten Gehalt an Pankreas- und Gallesekreten in den Tagessammelbehälter (eingefroren bei  $-20^\circ\text{C}$ ). Der restliche Darmsaft wurde verworfen. Somit kamen je Periode und Tier fünf Tagessammelproben (ca. 1200 ml) zur Auswertung.

Nach dem Auftauen erfolgte in einem Teil jeder Chymus-Tagessammelprobe die Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL. Der übrige Teil der Tagessammelproben wurde zur weiteren Untersuchung gemischt, gefriergetrocknet (CHRIST-Gefriertrockner) und anschließend nach Bestimmung des Trockensubstanzgehaltes für die Analyse des Chromgehaltes auf 1 mm vermahlen.

Die Berechnung des Trockensubstanzflusses am Dünndarm erfolgte nach der aufgeführten Formel aus der Tagessammelprobe je Tier:

$$\text{kg T am Duodenum/Tag} = \frac{(\text{mg Chrom/Kuh/Tag}) : (\text{mg Chrom/g Darmsafttrockensubstanz})}{1000}$$

Die Ermittlung der Nährstoffflüsse am Duodenum ergab sich aus dem Fluss an Darmsafttrockenmasse und dem entsprechenden Nährstoffgehalt in der Chymus-T (Rohr et al. 1979).

Aufgrund der zahlreichen Versuchsergebnisse (SCHAFFT 1983; ENGLING 1988 und KRASTANOVA 1993) wurde seit längerem am Institut für Tierernährung der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig der Ammoniak-Stickstoff im Darmchymus mit einem Wert von 5,2% ±1,8 des Gesamtstickstoffs angenommen. Da aber im vorliegenden Versuch mit unterschiedlichen ruminalen Stickstoffbilanzen nicht von einer konstanten duodenalen Ammoniak-N-Konzentration ausgegangen werden kann, wurden nachträglich in der 3. und 4. Versuchsperiode am 3. und 4. Tag der Darmsaftsammlung repräsentativ von jeweils einem Tier jeder Behandlung eine frische Chymusprobe für die Ammoniak-N-Bestimmung genommen.

#### 3.1.4.3. Gewinnung und Bearbeitung der Milchproben

In der jeweils vierten Versuchswoche wurden an zwei Tagen Milchproben von jedem Versuchstier entnommen und in Standardmilchflaschen abgefüllt, mit Kaliumdichromat konserviert und zur Untersuchung der Milchinhaltsstoffe zum Milchwirtschaftlichen Kontroll- und Untersuchungsverband Uelzen e.V. gegeben.

#### 3.1.4.4. Gewinnung und Bearbeitung der Blutproben

In der dritten Versuchswoche einer jeden Periode wurden von den Versuchstieren an fünf aufeinander folgenden Tagen ca. vier Stunden nach der Morgenfütterung eine Blutprobe (10 ml) aus der Vena coccygea m. mit Hilfe einer Einmalkanüle (LUER®) entnommen und in ein Serumbutröhrchen (Sarstedt®) überführt. Nach einer ein- bis zwei-stündigen Ruhezeit wurden die Proben bei 3000 U/min und 15 °C über fünfzehn Minuten zentrifugiert. Das gewonnene Serum wurde vorsichtig abpipettiert und in ein Sarstedt®-Röhrchen verbracht und bei –20 °C bis zu weiteren Untersuchungen aufbewahrt.

#### 3.1.4.5. Gewinnung und Bearbeitung der Kot- und Harnproben

Aus versuchstechnischen Gründen wurden erst in der vierten Versuchsperiode Harnproben als Spontanharn von jedem Tier genommen und einer weiteren Untersuchung zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes zugeführt. Anschließend wurden die Urinproben tiefgefroren und für die weitere Untersuchung aufbewahrt. Im Labor der Rinderklinik der Tierärztlichen Hochschule Hannover wurde die Creatinkonzentration in den Urinproben bestimmt und auf dieser Grundlage die tägliche Harn-N-Ausscheidung der Tiere ermittelt.

Die Kotproben aller Tiere wurden in jeder Periode genommen. Durch fehlerhafte Informationsweiterleitung wurden diese Proben allerdings nach Bestimmung des Stickstoffgehaltes im frischen Kot entsorgt, so dass eine weitere Bearbeitung und weitere Untersuchungen nicht möglich waren. Aus einer unveröffentlichten Zusammenfassung von 64 Datenpaaren und eigenen Versuchen in Braunschweig wurde daher ein Mittelwert von  $30 \pm 5,4\%$  für den Anteil des Stickstoffs am Darm, der mit dem Kot ausgeschieden wird, angenommen.

## **3.2. Chemische Analysemethoden**

### 3.2.1. WEENDER Rohnährstoffanalytik sowie Bestimmung von NDF und Bestimmung des Schwefelgehaltes

Im Labor des Instituts für Tierernährung der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig wurde die Analyse der Rohnährstoffe in der Maissilage, den Kraftfuttermischungen und den Futterrückwaagen nach dem WEENDER-Verfahren (Methodenbuch III der LUFA, Vorschriften 4.1.1, 5.1.2., 6.1.4., 8.1., 1976) durchgeführt. Im Einzelnen waren dies der Rohproteingehalt (XP), der Rohfettgehalt (XL), der Rohfasergehalt (XF) und der Rohaschegehalt (XA). Der Gehalt an N-freien Extraktionsstoffen (XX) wurde als Differenz errechnet.

Die Analyse der NDF-Gehalte in den Futtermittelproben und Futterrückwaagen erfolgte nach der von GOERING und VAN SOEST (1970) beschriebenen Detergentienmethode mit dem Fibertec-Gerät (Firma TECATOR).

Im Institut für ökologischen Landbau der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Trenthorst erfolgte die Bestimmung des Schwefelgehaltes in den aus den vier Versuchsperioden gepoolten Proben der Maissilage sowie der vier Kraftfuttermischungen. Mit Hilfe des Elementaranalysators der Firma HEKAtech GmbH wurde nach dem Prinzip der dynamischen Spontanverbrennung gekoppelt mit einer gaschromatographischen Trennung der entstandenen Gase der Schwefelgehalt ermittelt. Dabei erfolgte nach einer vollständigen Oxidation der Probe eine quantitative Umsetzung in NO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O und SO<sub>2</sub>. Nachdem NO an Kupfer zu N<sub>2</sub> reduziert und H<sub>2</sub>O adsorbiert wurde, wurden die verbleibenden Gase an einer GC-Säule bei 70 °C Ofentemperatur getrennt und im Wärmeleitfähigkeitsdetektor detektiert.

### 3.2.2. Bestimmung des pH-Wertes im Pansensaft und Duodenalchymus

Der pH-Wert im Pansensaft sowie im frischen Duodenalchymus wurde mit einem pH-Meter (Digital-pH-Meter, pH525, WTE) nach vorheriger Eichung des Gerätes bestimmt.

### 3.2.3. Bestimmung von Ammoniak-Stickstoff im Pansensaft und Duodenalchymus

Der Ammoniak-Stickstoffgehalt im Pansensaft und im frischen Duodenalchymus wurde mittels eines Mikrodiffusionsgefäßes nach einer modifizierten Methode nach Conway (VOIGT und STEGER, 1967) bestimmt. Während der Aufbereitung der Proben wurden diese zunächst bei 3000 U/min (2100 x g) für 5 Minuten zentrifugiert. Anschließend wurde 1 ml des Überstandes in das Mikrodiffusionsgefäß überführt, vorsichtig mit 1 ml K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> unterschichtet und mit 4 ml Borsäure (s. Anhang 2) versetzt. Bei dieser Methode wird durch die Kaliumkarbonatlösung der in den Probenansätzen enthaltene NH<sub>3</sub>-N ausgetrieben, in der zugefügten Borsäure aufgefangen und anschließend mit 0,01 normaler HCl titriert. Die Bestimmung des Chemikalienblindwertes erfolgte auf gleiche Weise, ohne Zusatz von Probe.

Die Ammoniak-Stickstoffmenge errechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{mg NH}_3\text{-N}/100 \text{ ml} = (\text{ml } 0,01\text{n HCl [titriert]} - \text{Blindwert}) \times 14$$

### 3.2.4. Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft

Die in Abschnitt 3.1. beschriebenen Proben wurden für die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft aufgetaut und erneut bei 1400 U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Anschließend erfolgte mit Hilfe einer Kapillarsäule (HP-FFAP, Modellnummer HP 19091F-112) die gaschromatografische Bestimmung (Hewlett Packard, 6890 mit Flammenionisationsdetektor (FID)). Diese Methode ist bei GEISLER et al. (1976) beschrieben.

### 3.2.5. Bestimmung des Stickstoffgehaltes im Duodenalchymus

Der aufgetaute Chymus wurde zunächst nach dem KJELDAHL-Verfahren aufgeschlossen. Hierzu wurden ca. 10 g der Probe in einen KJELDAHL-Kolben eingewogen und mit einem Katalysatormischung und Siedesteinen versetzt. Nach der Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 98%ig) wurde das Gemisch langsam erwärmt und so lange am Sieden gehalten, bis die Aufschlusslösung klar war. Der Gehalt an zu Ammoniumstickstoff überführtem organisch gebundenen Stickstoffs wurde durch potentiometrische Titration nach Wasserdampfdestillation in einer Borsäurevorlage bestimmt.

### 3.2.6. Bestimmung der Chromkonzentration im Duodenalchymus

Für die Bestimmung der Chromkonzentration wurde der gefriergetrocknete und auf 1 mm vermahlene Duodenalchymus im Porzellantiegel (1g) eingewogen und bei 105 °C im Trockenschrank über Nacht getrocknet. Nach der Bestimmung des Trockensubstanzgehalts wurden die Proben bei 550 °C im Muffelofen verascht. Die Asche wurde mit 4 ml 4,5% Kaliumbromatlösung und 3 ml Phosphorsäuremangansulfatlösung versetzt, bis zum Erreichen einer blauvioletten Farbtönung aufgeköcht und nach Abkühlung mit destilliertem Wasser in einen 250 ml- Kolben überführt, in dem sich bereits 25 ml  $\text{CaCl}_2$ - Lösung befand. Die Probenansätze wurden auf eine Temperatur von ca. 20 °C abgekühlt, über Nacht stehen gelassen und am nächsten Tag über Rundfilter in bereitstehende Analysengefäße filtriert.

Mit Hilfe einer vorher erstellten Standardkurve erfolgte die Messung des Chromgehalts in den Chymusproben mittels Atomabsorptionsspektrometrie (GBC 908AA).

Um den Reagenzienblindwert auf beschriebene Weise ermitteln zu können, war vor der ersten Markereingabe von jeder Versuchskuh eine Blindprobe (Darmsaft ohne Chrom) genommen wurden.

Der Chromgehalt im Marker wurde nach identischer Aufbereitung des eingesetzten Chromkuchens bestimmt.

### 3.2.7. Bestimmung des mikrobiellen Rohproteinanteils im Duodenalchymus

Der mikrobielle Anteil des Nichtammoniak-N in den gefriergetrockneten Chymusproben (s. 3.1.4.2.2.) wurde mittels NIRS nach der von LEBZIEN & PAUL (1997) beschriebenen Methode bestimmt. Die Berechnung der fermentierbaren organischen Substanz sowie der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese wurde in Anlehnung an SCHAFFT (1983) vorgenommen. Die entsprechenden Formeln sind in Abschnitt 3.3.1. aufgeführt.

### 3.2.8. Bestimmung der Milchinhaltsstoffe

Die von den Versuchstieren gewonnenen Milchproben wurden im Milchlabor Uelzen auf Milchfett, Milcheiweiß, Milchzucker, Milchwahstoff und somatische Zellen untersucht. Die Bestimmung von Milchzucker, Milcheiweiß und Milchfett erfolgte nach §2(5) der MGVO (1194) mittels eines MILKOSCAN-Gerätes (Foss Electric®) mit Infrarotlicht der Wellenlänge  $\lambda = 573 \mu\text{m}$ . Dabei wurde die Lichtschwächung, die durch die Absorption der Fett-, Eiweiß- oder Zuckermoleküle entstand, mit einem Referenzstrahl der gleichen Wellenlänge mittels einer Photozelle gemessen und vergleichend ausgewertet (KOTTERER und MÜNCH 1985).

Die somatische Zellzahl konnte nach Anfärbung der Milch und anschließender rechnergestützter Zählung aller leblosen Zellen erfasst werden (§35 LMBG L 01.01.-1mod). Die Bestimmung des Milchwahstoffgehaltes erfolgte mittels des MILKOSCAN FT 6500 (Foss Electric®) durch Infrarotmessung mit PLS Kalibrierung (HM RL Ue 006, 1995 05 Harnstoff, IR mit PLS).

### 3.2.9. Bestimmung der Blutparameter

Die Untersuchungen der von den fistulierten Tieren gewonnenen Serumproben wurden im Klinischen Labor der Klinik für Rinderkrankheiten der Tierärztlichen Hochschule Hannover durchgeführt. Der Harnstoffgehalt wurde mittels eines enzymatischen UV-Tests bestimmt, bei dem neben einem Harnstoffstandard (Reagenz 1), eine Pufferlösung aus Ketoglutarat und Tris-Puffer (Reagenz 2) sowie ein Enzymgemisch aus NADH, GLDH, Urease und ADP (Reagenz 2) zur Anwendung kamen (ABX Diagnostics-Parc Euromedicine, Urea 25). Die Umwandlung des Harnstoffes erfolgte dabei mit Hilfe der Urease zu Ammoniak und mit Ketaglutarat und GLDH zu Glutamat. Die Extinktionsänderung wurde bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt. Ebenso wurde für die Bestimmung des Cholesterins eine enzymatische Reaktion des veresterten Cholesterins über Cholesterinesterase zu Cholesterin und weiter über Cholesterinoxidase und Peroxidasen (Enzym-Reagenzlösung) zu Chinoneimin genutzt und die Absorptionsänderung bei 500 nm erfasst (ABX Diagnostics-Parc Euromedicine, Cholesterol 100/250). Der Gehalt an  $\gamma$ Glutamat-Transferase ( $\gamma$ GT) wurde mit einem kinetisch photometrischen Test nach Empfehlung der IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) durchgeführt (ProDia, Emdingen). Das Prinzip ist die Nutzung der durch  $\gamma$ GT katalysierten Übertragung von Glutaminsäure auf Akzeptoren, wie z.B. Glyclycerin. Bei diesem Vorgang wird ein Nitrobenzoat frei, dessen Extinktion bei einer Wellenlänge von 405 nm direkt proportional zur Aktivität der  $\gamma$ GT ist. Das Gesamtbilirubin wurde ebenfalls auf photometrischem Wege bestimmt (LT-SYS®). Die Bilirubinfraktionen bilden mit bestimmten Reagenzien einen Azofarbstoff, der nach Zugabe von alkalischem Tartrat eine blaue Farbe annimmt und somit das Absorptionsmaximum von 530 auf 598 nm verschiebt. Bei einer Wellenlänge wird die Extinktion der Probe ermittelt. Für die Erfassung des Glutamat-Dehydrogenase-Gehaltes (GLDH) wurde ebenfalls eine durch dieses Enzym katalysierte NADH-abhängige Reaktion benutzt. Die NADH-Abnahme ist hierbei direkt proportional der GLDH-Aktivität (Roche/Hitachi-917/Modular). Die Aspartat-Aminosäure-Transferase (AST) katalysiert die Reaktion zwischen Aspartat und Ketoglutarat zu Oxalacetat und Glutamat. Über eine anschließende MDH- Reak-

tion von Oxalacet zu Malat wird die Extinktionsänderung bei 340 nm bestimmt. Diese ist der AST-Aktivität direkt proportional (mti-diagnostics).

#### 3.2.10. Bestimmung des N-Gehaltes in den Harn- und Kotproben

Die frischen Urin- und Kotproben wurden ebenfalls mit dem KJELDAHL-Verfahren aufgeschlossen. In einem KJELDAHL-Kolben wurden zunächst ca. 10 g der Probe eingewogen und mit einem Katalysatormischung und Siedesteinen versetzt. Das Gemisch wurde nach Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure (98%ige  $H_2SO_4$ ) langsam erwärmt und bis zum Aufklaren der Lösung am Sieden gehalten. Der zu Ammoniumstickstoff überführte organisch gebundene Stickstoff wurde mit Hilfe der potentiometrischen Titration nach Wasserdampfdestillation in einer Borsäurevorlage bestimmt. Die Kotproben wurden nach dieser Untersuchung verworfen.

In den Harnproben wurde die Creatinkonzentration ermittelt. Dabei erfolgt eine kinetische Bestimmung des Creatinin ohne Enteiweissung, wobei die Höhe der Verbindung von Creatinin und Pikrinsäure durch eine Absorptionsänderung einer Wellenlänge von 492 nm bestimmt wird (Creatinine 80, ABX Diagnostics©).

### 3.3. Mathematische Auswertung

#### 3.3.1. Angewandte Formeln

Das nutzbare Rohprotein (nXP) am Duodenum berechnet sich aus der Differenz des Nicht-Ammoniak-Stickstoffs (NAN) und des endogenen Stickstoffs am Duodenum.

$$g \text{ nXP} = (g \text{ NAN} - g \text{ end. N}) * 6,25$$

Berechnung des endogenen Stickstoffs:

$$\text{Endogener N (g)} = 3,6 * \text{kg T am Duodenum}$$

Berechnung des unabgebauten Proteins (UDP):

$$\text{UDP} = 6,25 * [\text{g NAN am Duodenum} - (\text{g Mikrogen-N (MN)} + \text{g N endogen})]$$

Die Bestimmung der fermentierbaren organischen Substanz (FOS) erfolgte nach SCHAFFT (1983):

$$\text{FOM} = \text{OM-Aufnahme} - (\text{OM am Dünndarm} - \text{Mikrogen-OM}^*)$$

$$^*\text{Mikrogen-OS} = 11,8 * \text{Mikrogen-N}$$

Bestimmung der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB):

$$\text{RNB} = (\text{XP} - \text{nXP}) / 6,25$$

#### 3.3.2. Statistische Auswertung

Aus den ermittelten Einzelwerten sind jeweils die arithmetischen Mittelwerte der einzelnen Parameter und die dazugehörige Standardabweichung errechnet worden (MICROSOFT EXEL, 1998).

Für die computergestützte mathematisch-statistische Auswertung stand das Statistikprogramm SAS® (Statistical Analysis System), Version 6.12, für WINDOWS® zur Verfügung.

Um den Einfluss einer unterschiedlichen ruminalen Stickstoffbilanz zu überprüfen, wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse mit der GLM-Prozedur durchgeführt und die Mittelwerte unter Anwendung des TUKEY-Tests verglichen. Als Signifikanzniveau wurde in den Berechnungen eine Irrtumswahrscheinlichkeit von maximal 5% ( $p < 0,05$ ) angenommen. Im Folgenden kennzeichnen unterschiedliche Buchstaben signifikante Differenzen (<sup>a, b, c, d</sup>  $p < 0,05$  und <sup>A, B, C, D</sup>  $p < 0,01$ ).

Zusammenhänge zwischen einzelnen Parametern wurden z.T. mittels Regressionsgleichungen beschrieben. Mit Hilfe der REG-Prozedur wurden entsprechend lineare Korrelationskoeffizienten errechnet.

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1. Versuchsverlauf

Die vier Versuchsperioden verliefen insgesamt ohne größere Komplikationen. Die Tiere sollten im Mittel bedarfsgerecht mit NEL und nXP versorgt werden. Es wurde allen Tieren unabhängig von ihrer Leistung die gleiche Futtermenge im Mittel über alle vier Perioden von  $15,15 \pm 0,55$  kg Trockensubstanz vorgelegt, da nur der Einfluss der Behandlung überprüft werden sollte. Dadurch konnte nicht für alle Tiere, die sich zum Teil in sehr unterschiedlichen Leistungsstadien befanden, eine Bedarfsdeckung erreicht werden (s. 4.3. und Anhänge 6 und 7).

In den Versuchsperioden I bis III konnten alle sieben Tiere in die Auswertung einbezogen werden. Keines der Tiere zeigte Krankheitssymptome oder eine Beeinträchtigung der Melkbarkeit und damit verbundener reduzierter Milchleistung.

In Periode II wiesen ein Tier und in der ersten und vierten Periode je zwei Tiere Futterrückwaagen auf (s. Anhang 8). Diese waren aber weder besonders hoch, noch über die gesamte Periode andauernd, so dass die Tiere mit berücksichtigt und die Futteraufnahmen entsprechend korrigiert wurden. In der Periode III waren keine Futterrückwaagen vorhanden.

In der letzten Versuchsperiode mussten zwei Tiere (Elschen und Gerri, s. Tabelle 4, 3.1.1.) aus dem Versuch genommen werden, da sie bereits während der Adaptationszeit reduzierte Futteraufnahmen zeigten und es zu Beginn der Darmsaftsammlung zu erheblichen Futterrückwaagen kam. Die Ursache hierfür war bei einem Tier eine Klauenerkrankung. Das andere Tier war hochtragend und konnte somit die entsprechende Futtermenge nicht mehr aufnehmen. Die ausgefallenen Tiere befanden sich während dieser Versuchsperiode in keiner der beiden extremen Behandlungsgruppen (-0.6 oder +0.3), so dass ein Einfluss der Rationsvariante als Ursache unwahrscheinlich erscheint.

## 4.2. Zusammensetzung der verabreichten Futtermittel

### 4.2.1. Rohnährstoffgehalte der Maissilage

Die in Tabelle 7 zusammengestellten Rohnährstoffgehalte der in dem Versuch eingesetzten Maissilage zeigen insgesamt nur geringe Unterschiede zwischen den vier Versuchsperioden. Der Trockensubstanzgehalt der Maissilage schwankte über alle vier Perioden nur in einem engen Bereich von 31,4 bis 33,5 % T. Bezogen auf die Trockensubstanz bleibt die organische Masse sowie der Fettgehalt zwischen den vier Perioden annähernd konstant, lediglich der Gehalt an Rohprotein, Rohfaser sowie NDF zeigte etwas größere Schwankungen.

Die Unterschiede in den Rohnährstoffgehalten zwischen den Silagen der vier Versuchsperioden, die während des ganzen Versuchs aus einem Silo stammte, lässt sich durch eine nicht ganz homogene Silage sowie durch mögliche Ungenauigkeiten bei den Probenentnahmen erklären.

Tabelle 7: Rohnährstoffgehalte der eingesetzten Maissilagen in den vier Versuchsperioden

Versuchs- periode	T (%)	OS in % der Trockensubstanz	XP	XL	XF	XX	NDF
1	31,4	95,7	8,0	2,9	22,0	62,8	45,1
2	33,5	95,8	7,7	2,9	18,8	66,4	39,4
3	33,3	95,9	8,2	3,1	20,5	64,1	41,5
4	32,4	95,9	7,3	3,1	24,5	61,0	48,8
x ±s	32,6 ±1,0	95,8 ±0,1	7,8 ±0,4	3,0 ±0,1	21,4 ±2,4	63,6 ±2,3	43,7 ±4,1

#### 4.2.2. Rohrnährstoffgehalte der Krafftuttermischungen

In Tabelle 8 finden sich die Trockensubstanz- und Rohrnährstoffgehalte der im Versuch eingesetzten Krafftuttermischungen. Insgesamt variierte der Trockensubstanzgehalt der Krafftuttermischungen um Werte von 86,5 %. Die Krafftuttermischungen unterschieden sich hinsichtlich des Gehaltes an organischer Substanz, Rohfett und Rohfaser kaum voneinander. Bezogen auf die Trockensubstanz lag der Gehalt an organischer Substanz im Mittel bei 94,9 %, der Gehalt an Rohfett bei 3,5% und der Gehalt an Rohfaser bei 8,3 %.

Ausgehend von der Krafftuttermischung I mit einem Rohproteingehalt von 12,4 % in der Trockensubstanz stieg dieser durch die Harnstoffzulagen von Krafftuttermischung I bis Krafftuttermischung IV signifikant um jeweils ca. 4 Prozentpunkte bis auf 24,5 % in der Trockensubstanz an.

In Tabelle 8 ist ebenfalls der Energiegehalt der vier Krafftuttermischungen aufgeführt. Mit Werten zwischen 12,71 MJ ME und 12,78 MJ ME variieren die Krafftuttermischungen nur in einem engen Bereich.

Tabelle 8: Energie- und Rohrnährstoffgehalte und Trockensubstanzgehalt der eingesetzten Krafftuttermischungen

Futtermittel (n)	ME (MJ) (4)	T % (4)	in % der Trockensubstanz				
			OS (1)	XP* (4)	XL (1)	XF (1)	XX** (4)
Krafftutter I	12,78 ±0,01	86,7 ±1,1	94,7	12,4 <sup>A</sup> ±0,4	4,1	8,2	70,0 ±0,4
Krafftutter II	12,71 ± 0,01	86,5 ±0,7	94,9	16,3 <sup>B</sup> ±0,5	3,2	8,4	67,0 ±0,5
Krafftutter III	12,73 ±0,01	86,6 ±0,3	94,9	20,4 <sup>C</sup> ±0,4	3,3	8,3	62,9 ±0,4
Krafftutter IV	12,76 ±0,01	86,2 ±0,5	95,1	24,5 <sup>D</sup> ±0,6	3,3	8,2	59,1 ±0,6

(\*analysierter N\*6,25; \*\*N aus Harnstoff als XP berücksichtigt)

### 4.3. Futteraufnahme

Die Tabelle 9 stellt die mittleren Aufnahmen an Trockensubstanz und organischer Substanz aus der Maissilage und aus dem Kraftfutter während der vier Versuchsperioden dar. In der vierten Periode war aufgrund eines als zu gering unterstellten T-Gehaltes ca. 1 kg T Maissilage mehr verfüttert worden, als in den vorangegangenen Perioden. Das angestrebte Grund- und Kraftfuttermverhältnis von 50:50 wurde dadurch in der vierten Versuchsperiode um ca. 2,5 Prozentpunkte zu Gunsten der Maissilage verschoben.

Tabelle 9: Mittlere Trockensubstanzvorlage in den einzelnen Versuchsperioden (Tiere aller Gruppen, ohne Korrektur um Rückwaagen)

Periode	1	2	3	4
Trockensubstanzvorlage (kg/Tier/Tag)				
Maissilage*	7,75	7,62	7,74	8,76
Kraftfutter**	7,21 ±0,07	7,13 ±0,05	7,19 ±0,04	7,20 ±0,03
gesamt**	14,96 ±0,07	14,75 ±0,05	14,93 ±0,04	15,96 ±0,03

(\*n=1, \*\*n=4)

In der Tabelle 10 sind die mittleren täglichen Roh Nährstoffaufnahmen der fistulierten Milchkühe der vier Behandlungen dargestellt. Die Mittelwerte wurden um die Rückwaagen korrigiert und erklären somit die z.T. höheren Standardabweichungen.

Tabelle 10: Mittlere tägliche Trockensubstanz- und Rohnährstoffaufnahmen (kg) der Tiere in den einzelnen Behandlungen

Behandlung (n)	T	OS	XP*	XL	XF	XX**
-0,6	14,95	14,25	1,51 <sup>A</sup>	0,54	2,19	10,01
(7)	±0,45	±0,43	±0,02	±0,06	±0,25	±0,29
-0,3	14,82	14,13	1,79 <sup>B</sup>	0,46	2,34	9,54
(5)	±0,18	±0,16	±0,06	±0,01	±0,35	±0,05
0	15,17	14,47	2,09 <sup>C</sup>	0,48	2,34	9,56
(7)	±0,46	±0,45	±0,04	±0,02	±0,26	±0,17
+0,3	15,15	14,47	2,37 <sup>D</sup>	0,48	2,36	9,26
(7)	±0,55	±0,52	±0,04	±0,02	±0,26	±0,24

(\*analysierter N\*6,25; \*\*N aus Harnstoff als XP berücksichtigt)

Die tägliche Aufnahme der Versuchstiere an Trockensubstanz bzw. organischer Substanz in den einzelnen Behandlungen reichte von 14,82 kg (Behandlung –0,3) und 15,17 kg (Behandlung 0) bzw. 14,13 kg (Behandlung –0,3) und 14,47 kg (Behandlungen 0 und +0,3). Es zeigte sich, dass zwischen den Behandlungen keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Aufnahme an Trockensubstanz und organischer Substanz bestanden. Die Tiere der Versorgungsstufe –0,3 zeigten jeweils die geringsten Aufnahmen mit der kleinsten Standardabweichung. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die zwei Tiere dieser Behandlung in der vierten Periode, mit der höheren Versorgung mit Maissilage, ausfielen. Der Anteil der Rohfaser an der Trockenmasse belief sich durchgängig auf etwa 15 % ohne wesentliche Unterschiede zwischen den Versorgungsstufen. Ausgehend von der Behandlung –0,6 mit einer Rohproteinaufnahme von im Mittel 1,51 kg/Tag stieg diese hochsignifikant an und erreichte in der Ration +0,3 im Mittel einen Wert von 2,37 kg/Tag.

Aus den Analysenwerten sowie den in den DLG-Futterwerttabellen (1997) angegebenen Verdaulichkeiten bzw. Abbaubarkeiten des Rohproteins wurden die in den einzelnen Versorgungsstufen aufgenommenen Mengen an Nettoenergie (NEL),

nutzbarem Rohprotein (nXP) und die ruminale Stickstoffbilanz (RNB) ermittelt (Tabelle 11).

Die tägliche Energieaufnahme betrug im Mittel der Behandlungen  $109,4 \pm 1,2$  MJ NEL. Über alle Versuchsperioden lag der Bedarf an NEL im Mittel aller Tiere bei  $111,9 \pm 22,5$  MJ und wurde somit weitestgehend gedeckt. Allerdings zeigten sich, aufgrund des zum Teil sehr unterschiedlichen Leistungsniveaus der Tiere (s. 4.9.) diesbezüglich bei den Einzeltieren erhebliche Unterschiede (s. Anhang 6). Bei einem Tier wurde der Bedarf in einer Periode nur zu ca. 60% gedeckt. In dieser Periode befand sich das Tier in der höchsten RNB-Versorgungsstufe (+0,3). Inwieweit es durch einen Mangel an Energie zu einer reduzierten Nutzung des im Überschuss vorhandenen Stickstoffs geführt hat, wird in den Abschnitten 5.4. und 5.5 diskutiert. Im Gegensatz dazu wurden einige Tiere zeitweise mit Energie überversorgt (bis zu max. 125%). Zur höchsten Überversorgung kam es in der vierten Versuchsperiode, in der die höhere Verfütterung der Maissilage erfolgte. In den Behandlungen  $-0,6$  und  $-0,3$  g RNB/MJ ME waren die Unterschiede zwischen Bedarf und Versorgung am geringsten mit Standardabweichungen für die prozentuale Deckung des NEL-Bedarfs von 6 bzw. 17%. Der Bedarf im Mittel aller Tiere dieser beiden Versorgungsstufen wurde zu über 100 % gedeckt. Dagegen waren die tierindividuellen Schwankungen in der Bedarfsdeckung der Tiere in den Gruppen 0 und +0,3 höher, bei einer Standardabweichung von 21%. In der Behandlung +0.3 konnte der mittlere Bedarf aller Tiere in dieser Versorgungsstufe nur zu ca. 91% gedeckt werden (s. Anhang 6). Mit einer durchschnittlichen täglichen nXP-Aufnahme von  $2207 \pm 15$  g wurde der nXP-Bedarf der Versuchstiere, der im Mittel aller Tiere über alle vier Versuchsperioden bei  $2080 \pm 238$  g/Tag lag, ausreichend gedeckt. Die Standardabweichung für die Differenz zwischen nXP-Bedarf und nXP-Versorgung von 238 g/Tag nXP zeigt allerdings auch hier den hohen Schwankungsbereich. Die beiden, im Zusammenhang mit der NEL-Versorgung bereits angesprochenen Tiere mit den oberen bzw. unteren Extremwerten bezüglich der prozentualen Bedarfsdeckung, zeigten auch bei der Deckung des nXP-Bedarfes den höchsten bzw. niedrigsten Wert von 121 und 73 % Deckung des nXP-Bedarfs (s. Anhang 7).

Die angestrebten ruminalen Stickstoff-Bilanzen („geplante“ RNB: -0.6, -0.3, 0 und +0.3 g/MJ ME) in Beziehung zur umsetzbaren Energie (ME) konnten mit Werten zwischen -0,6 und +0,1 g/MJ ME im Mittel der Behandlungen annähernd erreicht werden.

Weiterhin wurde in der Tabelle 11 das jeweilige Stickstoff : Schwefel- Verhältnis für die vier Versorgungsstufen angegeben, wobei sich mit steigender Stickstoffversorgung das Verhältnis erweiterte (s. Anhang 5).

Tabelle 11: Aus den Futterraufnahmen, den Analysen und DLG-Futterwerttabellen (1997) ermittelten tägliche Aufnahme an NEL, ME und nXP sowie die ruminale N-Bilanz (RNB) der Milchkühe und das N : S -Verhältnis

	-0,6	-0,3	0	+0,3
<b>Aufnahmen</b>				
-NEL (MJ/TAG)	108,5 ±2,8	108,1 ±0,5	110,3 ±2,9	110,5 ±3,5
-ME (MJ/Tag)	176,0 ±4,8	174,2 ±1,9	177,9 ±4,8	177,8 ±5,9
-nXP (g/Tag)	2206 ±57,7	2185 ±30,0	2220 ±53,5	2215 ±63,1
<b>„Analysierte“ ruminale Stickbilanz*</b>				
-g/Tag	-112 ±9	-63 ±7	-21 ±9	24 ±10
-g/MJ ME	-0,6 ±0,03	-0,4 ±0,04	-0,1 ±0,05	0,1 ±0,06
N:S-Verhältnis	10 : 1	12 : 1	14 : 1	16 : 1

(\* s. Tabelle 17)

#### 4.4. Entwicklung von Körpermasse und Leistung der Versuchstiere

Die Tiere hatten zu Versuchsbeginn ein mittleres Körpergewicht von 562 kg ±50. Im Laufe des Versuchs nahm das über alle Tiere gemittelte Körpergewicht in geringem Umfang ab und lag am Ende des Versuches bei 538 kg ±35. Es gab jedoch auch in der Gewichtsentwicklung große tierindividuelle Unterschiede (s. Anhang). Dies erklärt sich insbesondere durch das unterschiedliche Leistungsniveau der Tiere. Die

beiden Tiere mit dem höchsten Gewichtsverlust über den gesamten Versuchszeitraum (53 und 64 kg) wurden mit Energie (ca. 85% des Bedarfes) und ein Tier zudem mit nXP (ca. 96%) unterversorgt. Die vier Versorgungsstufen waren am Anfang und in der letzten Versuchsperiode nicht mit den gleichen Tieren besetzt (s. Tabelle 4), so dass nicht unmittelbar auf einen Behandlungseffekt geschlossen werden konnte.

Die Mittelwerte für die in jeder der vier Versuchsperioden bestimmten Milchmengen und Milchinhaltsstoffe sind in Tabelle 12 dargestellt. Aufgrund der nur in begrenztem Umfang zur Verfügung stehenden fistulierten Milchkühe war es nicht möglich, Tiere mit gleicher Leistung auszuwählen. Ebenso war es aus versuchstechnischen Gründen nicht immer gegeben, dass jede Periode und Behandlung mit der gleichen Anzahl an Versuchstieren besetzt werden konnte. Von einer statistischen Auswertung der Milchleistung sowie der Milchinhaltsstoffe wurde aus diesen Gründen sowie der geringen Tierzahl abgesehen. Die Werte für die Milchmenge und den Milchfettgehalt sowie entsprechend für die um den Fettgehalt korrigierte Milchmenge (FCM) zeigten bei steigender ruminaler Stickstoffbilanz einen tendenziellen Anstieg. Der Milchproteininhalt wies keine Unterschiede zwischen den Versorgungsstufen auf.

Tabelle 12 : Tägliche Milchleistung und Milchinhaltsstoffe bei unterschiedlicher RNB

Parameter/Ration	-0.6	-0.3	0	+0.3
(n)	(7)	(5)	(7)	(7)
Milchmenge (kg/Tag)	20,3 ±1,6	22,8 ±4,3	24,0 ±5,7	25,2 ±7,2
FCM* (kg/Tag)	21,4 ±2,2	23,4 ±5,4	25,7 ±7,6	30,9 ±10,9
Milchfett (%)	4,4 ±0,8	4,2 ±1,3	4,5 ±0,9	5,2 ±0,9
Milchprotein (%)	3,2 ±0,2	3,2 ±0,3	3,1 ±0,4	3,1 ±0,3

\*FCM= fat corrected milk = ((Fett% x 0,15) +0,4) x kg Milch

## 4.5. Pansenphysiologische Untersuchungen

### 4.5.1. pH-Werte

Die jeweils an vier Tieren für jede der vier Behandlungen ermittelten pH-Werte im Pansensaft zeigten zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede (Abb. 5, Anhang 9.1.).

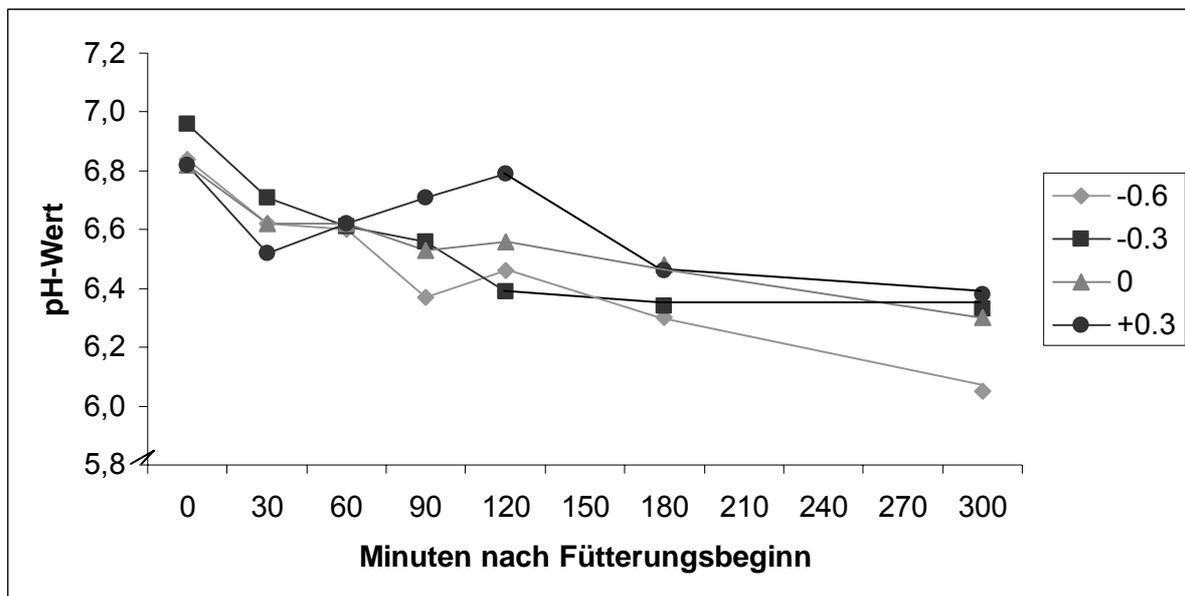


Abbildung 5: Verlauf des pH-Wertes im Pansensaft während der ersten 5 Stunden nach Fütterungsbeginn (n=4)

Unmittelbar vor der Fütterung waren die pH-Werte im Mittel bei allen vier Behandlungen annähernd gleich und variierten in einem Bereich zwischen 6,8 und 7,0. In allen vier Behandlungen kam es danach zu einem pH-Wert-Abfall, der sich mit Ausnahme der RNB-Versorgung +0,3 über den Messzeitraum von 5 Stunden fortsetzte. In der Stufe +0,3 kam es nach einem kurzen Abfall zu einem Anstieg des pH-Wertes bis auf 6,8 zwei Stunden nach Fütterungsbeginn, um dann auch hier wieder kontinuierlich abzufallen. Die Verläufe bei den Behandlungen mit der größten Differenz bezüglich der Harnstoffmenge im Kraftfutter (Tabelle 6), d.h. mit der geringsten ruminalen

Stickstoffbilanz (-0,6 g/MJ ME) und der höchsten ruminalen Stickstoffbilanz (+0,3 g/MJ ME), differierten am stärksten. Dabei lagen die pH-Werte bei der Versorgungsstufe -0.6 fast durchweg tiefer. Fünf Stunden nach Fütterungsbeginn stellte sich mit Ausnahme der niedrigsten RNB-Stufe ein annähernd gleicher pH-Wert von 6,4 ein. Bei der Versorgung mit einer RNB von -0,6 g/MJ ME befand sich pH-Wert zu diesem Zeitpunkt mit 6,1 auf dem tiefsten Niveau.

#### 4.5.2. NH<sub>3</sub>-N-Konzentrationen

In Abbildung 7 ist der Verlauf der Ammoniak-N-Konzentration im Pansensaft im Mittel von jeweils vier Tieren dargestellt (s. Anhang 9.2.). Ebenso wie der pH-Wert der Tiere lagen die Ausgangskonzentrationen an NH<sub>3</sub>-N im Pansensaft aller Tiere mit 0,9 bis 4,8 mmol/l in einem annähernd gleichen Bereich. Bei allen Tieren ist ein bis zwei Stunden nach Fütterungsbeginn die höchste NH<sub>3</sub>-N-Konzentration im Pansensaft erreicht (3,9; 12,9; 13,8 und 20,3 mmol/l). Danach fiel die NH<sub>3</sub>-N-Konzentration bei allen Stufen kontinuierlich ab. Die höchste Ammoniakkonzentration im Pansensaft über den gesamten Messzeitraum konnte in der mit pansenverfügbarem Stickstoff überversorgten Stufe (RNB +0.3 g/MJ ME) ermittelt werden. In Übereinstimmung mit der zunehmenden Unterversorgung an pansenverfügbarem Stickstoff sank die ruminale NH<sub>3</sub>-N-Konzentration bis auf 1,1 mmol/l bei der RNB-Versorgung -0.6.

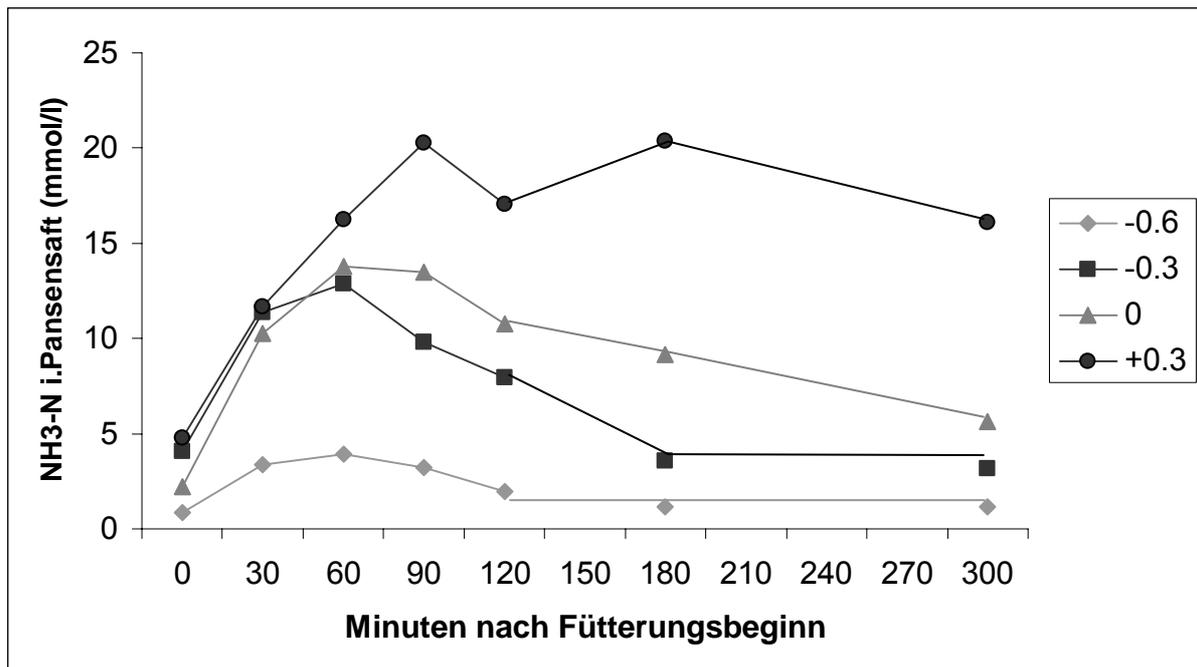


Abbildung 7: Verlauf der  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentrationen (mmol/l) im Pansensaft während der ersten 5 Stunden nach Fütterungsbeginn

Die mittlere  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Pansensaft drei Stunden nach Beginn der Fütterung (s. 4.5.3.) zeigte signifikante Unterschiede bei unterschiedlicher Stickstoffversorgung. Die Behandlung mit der höchsten RNB (+0,3) unterschied sich hierbei mit  $20,4 \pm 2,7$  mmol/l signifikant von den anderen drei Versorgungsstufen. Signifikante Unterschiede zeigten sich zu diesem Zeitpunkt ebenfalls zwischen den RNB-Behandlungen  $-0,6$  und  $0$  g/MJ ME mit  $1,1 \pm 0,5$  und  $9,2 \pm 2,9$  mmol/l.

#### 4.5.3. Konzentration an flüchtigen Fettsäuren

Die Bestimmung der Konzentration an flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft erfolgte in den 180 Minuten nach Fütterungsbeginn gezogenen Proben. Aufgrund der großen tierindividuellen Streuung der Werte waren statistisch keine Unterschiede in der Gesamtfettsäurenkonzentrationen zwischen den vier RNB-Versorgungsstufen (s. Tabelle 13) abzusichern. Mit Werten zwischen 115,5 bis 136,2 mmol/l befanden sich die

Gesamtfettsäurenkonzentrationen auf relativ hohem Niveau. Die tendenziell niedrigste Konzentration wurde bei der Behandlung -0,3 gemessen. Die molaren Anteile der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft sind in der Tabelle 13 ebenfalls dargestellt. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen konnten nicht festgestellt werden. Tendenziell ( $p>0,05$ ) wurde in der Stufe -0,3 der höchste Essigsäureanteil ermittelt, wodurch sich bei gleichzeitig niedrigstem Propionsäureanteil das weiteste Acetat : Propionat-Verhältnis (3,2:1,0) für diese Gruppe errechnete. Ein Einfluss der Behandlung ist in dieser mittleren Versorgungsstufe als unwahrscheinlich anzusehen. Die höchste Gesamtfettsäurenkonzentration und das engste C2:C3- Verhältnis konnten bei einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz festgestellt werden (s. Tabelle 13).

Tabelle 13: Gesamtfettsäurekonzentration sowie molare Anteile der einzelnen flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft drei Stunden nach Beginn der Morgenfütterung (n=4)

Behandlung	-0.6	-0.3	0	+0.3
Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren (mmol/l)				
	135,9 ±14,7	115,5 ±8,9	136,2 ±28,1	121,6 ±15,4
Flüchtige Fettsäuren (molare Anteile, %)				
Essigsäure	60,1 ±2,3	60,2 ±3,8	59,9 ±2,7	59,1 ±4,4
Propionsäure	21,7 ±1,0	18,6 ±2,0	22,1 ±2,4	21,9 ±3,4
Iso-Buttersäure	0,7 ±0,1	0,7 ±0,1	0,8 ±0,1	0,8 ±0,1
Buttersäure	13,7 ±1,3	15,5 ±3,4	13,7 ±1,5	14,4 ±3,1
Iso-Valeriansäure	1,5 ±0,3	2,0 ±0,5	1,6 ±0,3	1,7 ±0,3
Valeriansäure				
Valeriansäure	2,2 ±0,6	2,2 ±0,6	1,9 ±0,2	2,1 ±1,4
C <sub>2</sub> :C <sub>3</sub> -Verhältnis	2,8:1,0	3,2:1,0	2,7:1,0	2,7:1,0

## 4.6. Untersuchungen im Darmchymus

### 4.6.1. Ammoniak-N-Konzentration

Die in den frischen Darmchymusproben jeder Versorgungsstufe ermittelten mittleren  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentrationen sind in Abbildung 7 dargestellt (s. Anhang 10).

In Übereinstimmung mit den Mittelwerten im Pansensaft stieg die Ammoniak-N-Konzentration mit zunehmender ruminaler Stickstoffbilanz an. Sowohl bei niedrigster ruminaler Stickstoffbilanz (-0,6) mit  $2,1 \pm 0,5$  mmol/l, als auch mit der höchsten ruminalen Stickstoffbilanz (+0,3) mit  $11,3 \pm 0,8$  mmol/l unterschieden sich die Konzentrationen jeweils signifikant von den Behandlungen -0.3 und 0 ( $6,2 \pm 0,9$  mmol/l bzw.  $7,9 \pm 1,9$  mmol/l)

Bei den mit pansenverfügbarem Stickstoff unterversorgten Tieren (RNB-Stufe = -0.6 und -0.3) lag die mittlere Ammoniak-N-Konzentration im Darmsaft höher als die mittlere  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Pansensaft. Dagegen zeigte sich ein umgekehrtes Verhältnis bei ausgeglichener sowie bei positiver ruminaler Stickstoffbilanz (0 bzw. +0.3). Der Ammoniak-N-Anteil am gesamten Stickstoff im Darm betrug ca. 2,1; 3,5; 4,0 bzw. 5,8% in den Behandlungen -0.6; -0.3; 0 bzw. +0.3.

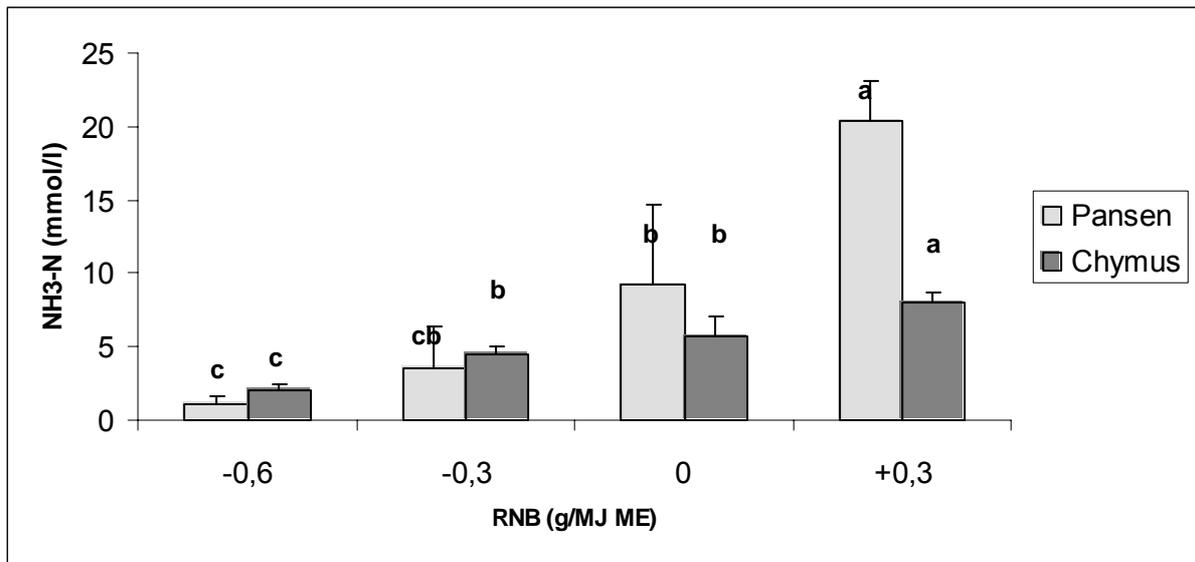


Abbildung 7: Mittlere  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Pansensaft und Darmchymus drei Stunden nach Fütterungsbeginn bei unterschiedlicher RNB

#### 4.6.2. Fluss an Trockensubstanz und organischer Substanz

In Tabelle 14 ist der am proximalen Duodenum gemessene mittlere Fluss an Trockensubstanz und organischer Substanz der Versuchstiere aufgeführt. Aus Anhang 13 sind die für jeden Tag und jedes Tier ermittelten Trockensubstanzflüsse (je Tag in den Darm gelangte Mengen an Trockensubstanz bzw. Nährstoffen) zu entnehmen.

Tabelle 14: Mittlerer Fluss und scheinbare ruminale Verdaulichkeit der Trockensubstanz und organischen Substanz am proximalen Duodenum (MW±SD)

Versorgung (n)	-0.6 (7)	-0.3 (5)	0 (7)	+0.3 (7)
Fluss in kg/Tag				
T	9,0 ±0,5	8,7 ±0,7	8,8 ±0,6	8,8 ±0,8
OS	7,5 ±0,3	7,3 ±0,6	7,3 ±0,5	7,3 ±0,6
Fluss in % d. Aufnahme				
T	60,0 ±3,3	58,8 ±4,1	57,7 ±3,2	57,8±3,5
OS	52,1 ±2,9	51,3 ±3,6	50,2 ±2,5	50,6 ±3,0
„Ruminale Verdaulichkeit“ in % der Aufnahme				
T	40,0 ±3,3	41,2 ±4,1	42,3 ±3,2	42,2 ±3,5
OS	47,9 ±2,9	48,7 ±3,6	49,8±2,5	49,4 ±3,0

Für den Fluss an Trockensubstanz und organischer Substanz konnten zwischen den vier Behandlungen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Bei der stärksten Unterversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff (-0.6) war im Vergleich zu den anderen Versorgungsstufen der höchste Trockensubstanzfluss, der ca. 60% der Trockensubstanzaufnahme entsprach, zu verzeichnen. Diese Versorgungsstufe zeigte eine nichtsignifikante, um 1-2 Prozentpunkte niedrigere scheinbare ruminale Verdaulichkeit der Trockensubstanz sowie der organischen Substanz gegenüber den Behandlungen -0.3; 0 und +0.3. Allerdings kam es bei gleicher Futtervorlage in den Versorgungsstufen durch den ansteigenden Harnstoffgehalt in den Krafftuttermischungen zu einer Abnahme der organischen Substanz. In der Behandlung +0.3 g RNB/MJ ME wurde den Tieren ca. 300 g weniger organische Masse vorgelegt, als in der Versorgungsstufe -0.6 g RNB/MJ ME. Dies täuscht eine gering erhöhte scheinbare ruminale Verdaulichkeit vor. Es ist vielmehr davon auszugehen, dass die scheinbare ruminale Verdaulichkeit mit steigender Harnstoffzulage und sinkender organischer Masse zwischen den Versorgungsstufen in geringem Maße abnimmt.

#### 4.6.3. Stickstofffluss am Duodenum

Die mittlere Stickstoffaufnahme sowie der Stickstoff- und Nichtammoniak-N (NAN)-Fluss am Duodenum bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz sind in der Tabelle 15 angegeben. Mit Ausnahme der Behandlung -0.6 gegenüber -0.3 zeigten die Versorgungsstufen signifikante Unterschiede in der in den Darm fließenden Stickstoffmenge bezogen auf die N-Aufnahme. Bei der niedrigsten Versorgung mit RNB (-0.6) flossen ca. 28% mehr Stickstoff in den Darm als aufgenommen wurde. Mit steigender Versorgung an pansenverfügbarem Stickstoff floss relativ weniger Stickstoff in den Darm, bezogen auf die N-Aufnahme. Lediglich bei der Überversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff floss weniger Stickstoff in den Darm als aufgenommen wurde (ca. 95%).

Tabelle 15: Übersicht über den Fluss an Gesamt-Stickstoff und Nicht-Ammoniakstickstoff (NAN) am Duodenum bei Fütterung mit unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz

Versorgung	-0.6	-0.3	0	+0.3
N-Aufnahme (g/Tag)	241,2 (±3,5)	286,1 (±9,7)	334,6 (±5,7)	378,7 (±7,0)
N am Duodenum				
g/Tag	308,6 (±36,0)	329,6 (±38,8)	380,0 (±42,1)	358,3 (±38,7)
% der Aufnahme	127,8 <sup>c</sup> (±13,7)	115,0 <sup>bc</sup> (±10,4)	113,5 <sup>b</sup> (±11,6)	94,6 <sup>a</sup> (±10,3)
NAN am Duodenum (g/Tag)	302,1 <sup>b</sup> (±34,9)	318,0 <sup>ab</sup> (±39,1)	364,9 <sup>a</sup> (±41,7)	337,3 <sup>ab</sup> (±37,0)

Bezüglich der Nichtammoniak-N-Menge am Duodenum zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der niedrigsten und der ausgeglichenen RNB-Versorgungsstufe. Bei zunehmender Versorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff stieg die Menge an NAN im Duodenum bis RNB = 0. Entsprechend der Abnahme an  $\text{NH}_3\text{-N}$  im Duodenalchymus bei abnehmender ruminaler Stickstoffbilanz (von 11,3 auf 2,1 mmol/l bei einer RNB-Abnahme von +0.3 auf -0.6 g/MJ ME) lag der Anteil von Nichtammoniak-N am Gesamt-Stickstoff mit 97,9% bei der Versorgungsstufe -0.6 am höchsten.

#### 4.6.4. Mikrobielle Proteinsynthese und Futterproteinabbau

Der Umfang und die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese sowie die Mengen an unabgebautem Futterprotein (UDP), endogenem Stickstoff und nutzbarem Rohprotein sind in der Tabelle 16 dargestellt. Der durch NIRS ermittelte Anteil des Mikrobenstickstoffs am Nichtammoniak-Stickstoff lag bei der geringsten Versorgung mit ruminal verfügbarem Stickstoff (RNB -0.6 g/MJ ME) signifikant höher als bei den anderen drei Versorgungsstufen, obwohl sich bei dieser Stufe die gegenüber einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz signifikant niedrigste mikrobielle Proteinsyntheseleistung (1,3 kg gegenüber 1,6 kg) zeigte. Dies beruhte drauf, dass der unabgebaute Futterprotein- (UDP) Anteil am nXP stärker abnahm als die Menge an Mikrobenprotein.

Tabelle 16: Angaben zur Menge an fermentierter organischer Substanz (FOM), zum nutzbaren Rohprotein (nXP) und Futterproteinabbau (UDP) sowie zur mikrobiellen Proteinsynthese, Menge an endogenem Stickstoff und zur „tatsächlichen“ RNB (anhand der tatsächlichen nXP-Flüsse berechnet, s. 4.6.5.)

Parameter	-0.6	-0.3	0	+0.3
(n)	(7)	(5)	(7)	(7)
Fermentierbare organische Substanz (FOM)				
(kg/Tag) <sup>1)</sup>	9,3 <sup>b</sup> ±0,6	9,4 <sup>ab</sup> ±0,7	10,1 <sup>a</sup> ±0,5	9,9 <sup>ab</sup> ±0,5
(% der OM-Aufn.)	65,6 <sup>b</sup> ±3,0	66,8 <sup>ab</sup> ±5,2	70,0 <sup>a</sup> ±1,9	68,2 <sup>ab</sup> ±3,2
nXP <sup>2)</sup>	1686 <sup>b</sup> ±215	1792 <sup>ab</sup> ±254	2084 <sup>a</sup> ±249	1911 <sup>ab</sup> ±219
UDP <sup>3)</sup>	350 <sup>b</sup> ±82	442 <sup>ab</sup> ±106	532 <sup>a</sup> ±70	470 <sup>a</sup> ±60
Mikrobielles Protein (MP)				
(g/Tag)	1336 <sup>b</sup> ±143	1350 <sup>ab</sup> ±150	1552 <sup>a</sup> ±184	1441 <sup>ab</sup> ±174
(g/MJ ME) <sup>4)</sup>	7,7 <sup>b</sup> ±0,8	7,8 <sup>ab</sup> ±0,9	8,8 <sup>a</sup> ±0,8	8,3 <sup>ab</sup> ±0,9
(g/kg FOM)	143 ±13	143 ±8	153 ±14	146 ±15
Endog. Protein <sup>5)</sup>	201,7 ±10,9	196,0 ±15,2	196,9 ±13,6	197,2 ±18,2
„tatsächliche“ RNB <sup>6)</sup> (g/MJ ME)*	-0,16 ±0,2	-0,04 ±0,2	0,01 ±0,2	0,41 ±0,2

\*s. Tabelle 17

- 1) FOM (in den Vormägen fermentierte OM) = OM-Aufnahme – (OM- am Dünndarm – MikrobenOM), wobei MikrobenOM = 11,8 \*Mikroben N
- 2) nXP = (NAN\*6,25) – endogenes Protein
- 3) UDP = nXP - MP
- 4) ME (MJ/kg T) s. Tabelle 11
- 5) Endogenes Protein = 3,6 \*kg T am Duodenum \*6,25
- 6) „tatsächliche“ RNB = (tatsächliche XP-Aufnahme – gemessene nXP-Menge am Darm)/ 6,25/ tatsächliche ME-Aufnahme

Die Unterversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff schlug sich in einer zwischen den Versorgungsstufen -0.6 und 0 signifikant reduzierten Menge an fermentierter organischer Substanz nieder. Die Menge an fermentierter organischer Substanz wurde aber in jeder Versorgungsstufe im annähernd gleichen Umfang für die mikrobielle Proteinsynthese genutzt, so dass die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese keine signifikanten Unterschiede aufwies (zwischen 143 und 153 g MP/ kg FOM). Der tendenziell höchste Wert wurde bei einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME) ermittelt. Diese Behandlung wies ebenfalls die gegenüber der Versorgung mit einer RNB von -0.6 g/MJ ME signifikant höchste Menge an nutzbarem Rohprotein (nXP) auf. Der Anteil an unabgebautem Futterprotein (UDP) wurde durch Differenzbildung aus nXP und Mikrobenprotein bestimmt. Es zeigten sich auch hier signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen -0.6 und 0 sowie +0.3. Mit einer UDP-Menge von  $352 \pm 82$  g/Tag lag aber die Versorgungsstufe -0.6 deutlich unter den Werten der Tiere der Stufen -0.3; 0 und +0.3 ( $442 \pm 106$ ;  $532 \pm 70$  bzw.  $470 \pm 60$  g/Tag). Die ermittelten Größen für die mikrobielle Proteinsynthese zeigten insgesamt die höchsten Werte bei einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME). Bei einer Unterversorgung, aber auch bei einer Überversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff wurden geringere Mengen an mikrobiellem Protein, nutzbarem Rohprotein sowie unabgebautem Futterprotein ermittelt.

In der Tabelle 16 wurden auf Grundlage der ermittelten nXP-Flüsse am Darm die „tatsächlichen“ ruminalen Stickstoffbilanzen berechnet. Aufgrund der Wechselbeziehungen zwischen ruminaler N-Bilanz, mikrobieller Proteinsynthese und Futterproteinabbau zeigten sich bezüglich der „tatsächlichen“ RNB deutlich geringere Unterschiede zwischen den Versorgungsstufen (Differenz = 0,57 g/MJ ME) als bei der vorher geschätzten ruminalen Stickstoffbilanz (Differenz = 0,90 g/MJ ME). Insbesondere bei der Versorgungsstufe -0.6 war der nXP-Fluss gegenüber der Planung soweit reduziert, dass die „tatsächliche“ ruminale Stickstoffbilanz nur -0,16 g RNB/MJ ME betrug. Da auch eine Überversorgung mit RNB die Menge an nXP tendenziell reduzierte, stieg auch hier die RNB gegenüber der Vorausberechnung (Tabelle 11) an (0,41 „tatsächliche“ statt 0,1 g/MJ ME „analyisierte“ RNB). Am genauesten war die

Vorhersage bezüglich der ruminalen Stickstoffbilanz bei ausgeglichener RNB (Differenz = +0,1).

#### 4.6.5. Vergleichende Betrachtung der „geplanten“, „analysierten“ und „tatsächlichen“ ruminalen Stickstoffbilanz (RNB)

Die drei unterschiedlichen Bezeichnungen der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB) worden anschließend für die vorliegende Arbeit definiert und einheitlich verwendet. Dabei bleibt allerdings die Bezeichnung der vier Behandlungen bzw. Versorgungsstufen (-0.6; -0.3, 0 und +0.3 g/MJ ME) unabhängig von den eigentlichen Werten für die ruminale Stickstoffbilanz bestehen und wird einheitlich als Unterteilung benutzt („geplante RNB“).

Die „geplante“ RNB wurde vor Versuchsbeginn anhand der Werte für XP, nXP und Energie (ME) aus den DLG-Futterwerttabellen (1997).

Dagegen fließen in die „analysierte“ RNB die Werte der WEENDER-Analyse der Roh Nährstoffgehalte der einzelnen Futtermittelkomponenten mit ein. Unterschiede erklären sich somit durch von Tabellenwerten abweichende Analysenwerte.

Die „tatsächliche“ RNB ergab sich aus der aufgenommenen XP-Menge und der am Dünndarm tatsächlich gemessenen nXP-Menge. Durch einen reduzierten nXP-Fluss bei einer Unterversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff sank die RNB weniger, als erwartet. Da auch bei einer positiven RNB der nXP-Fluss entgegen den Erwartungen geringer ausfiel, wurde hier ebenfalls eine höhere RNB berechnet.

In der Tabelle 17 sind die Werte für die unterschiedlichen RNB-Begriffe zusammen dargestellt. Wo nicht anders erwähnt, wird in Tabellen und Abbildungen die „geplante“ RNB angegeben.

Tabelle 17: „Geplante“ RNB, „analysierte“ RNB und „tatsächliche“ RNB

Behandlung		-0.6*	-0.3**	0*	+0.3*
„geplante“ (g/MJ ME)	RNB	-0,6	-0,3	0	+0,3
„analysierte“ (g/MJ ME)	RNB	-0,6 ±0,03	-0,4 ±0,04	-0,1 ±0,05	0,1 ±0,06
„tatsächliche“ (g/MJ ME)	RNB	-0,2 ±0,18	0,0 ±0,19	0,0 ±0,20	0,4 ±0,21

(\*n=7, \*\*n=5)

#### 4.7. Parameter der N-Ausscheidung

##### 4.7.1. Blut- und Milchharnstoff

In Abbildung 8 sind die mittleren Harnstoffgehalte sowohl in der Milch, als auch im Blutserum für die vier Versorgungsstufen dargestellt (s. Anhang 11). Es zeigte sich ein hochsignifikanter ( $p < 0,01$ ) Anstieg des Harnstoffgehaltes im Blutserum bei steigender ruminaler Stickstoffbilanz. Ausgehend von 1,0 mmol/l  $\pm 0,3$  bei der stärksten Unterversorgung mit ruminal verfügbarem Stickstoff (RNB -0.6 g/MJ ME) stieg der Gehalt auf mehr als das Siebenfache bei einer positiven ruminalen Stickstoffbilanz (7,9 mmol/l  $\pm 1,3$ ). Bei einer ausgeglichenen RNB variierte die mittlere Harnstoffkonzentration im Blutserum um 5,34 mmol/l  $\pm 1,3$ . Die Abbildung 8 zeigt einen ähnlichen Verlauf des Gehaltes an Harnstoff in der Milch und im Serum. Auch der Milchharnstoffgehalt änderte sich signifikant ( $p < 0,05$ ) bei unterschiedlicher RNB. Bei negativer ruminaler Stickstoffbilanz (-0.6 und -0.3) konnten signifikant niedrigere Milchharnstoffgehalte (1,1  $\pm 0,6$  mmol/l und 1,7  $\pm 1,0$  mmol/l) ermittelt werden als bei ausgeglichener bzw. positiver RNB (3,6  $\pm 0,9$  mmol/l sowie 5,4  $\pm 0,5$  mmol/l).

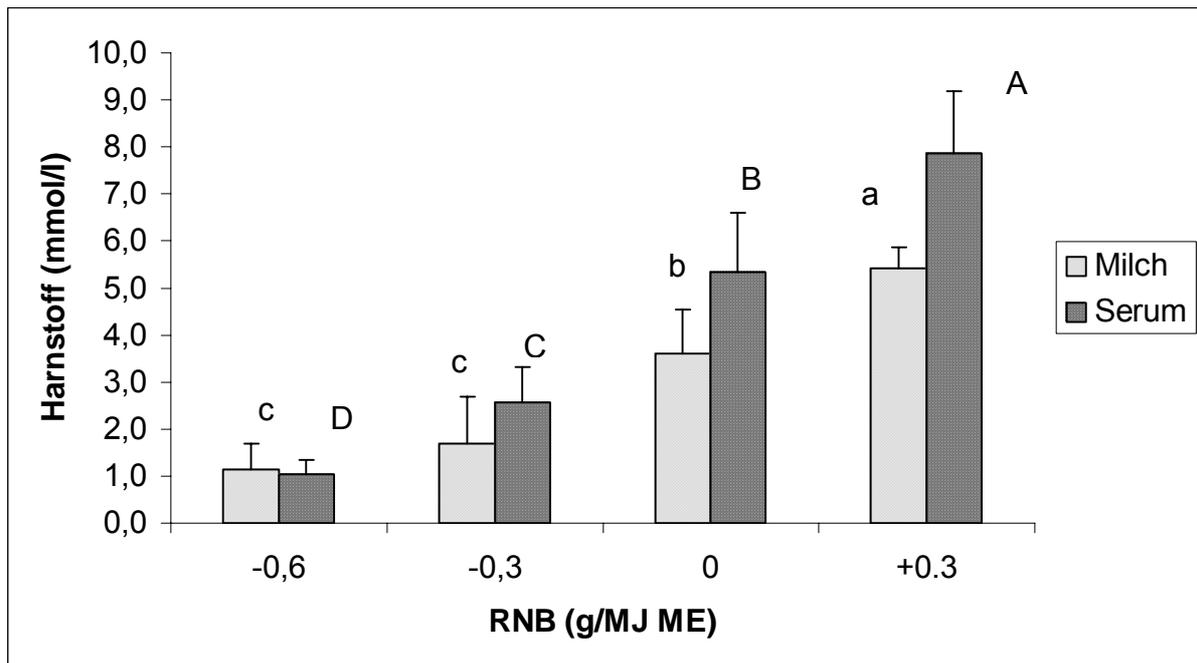


Abbildung 8: Mittlere Harnstoffgehalte in der Milch und im Blutserum bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz

#### 4.7.2. Abschätzung der Kot- und Harn-N-Ausscheidung

In Abbildung 9 sind die mittleren täglichen Stickstoffmengen dargestellt, die mit dem Urin sowie mit dem Kot ausgeschieden wurden. Da zum einen die Harnproben lediglich in einer Versuchsperiode gezogen wurden, die Tiere zahlenmäßig nicht homogen auf die Versorgungsstufen aufgeteilt waren und zum anderen die Kotproben nur auf der Grundlage einer als konstant angenommenen Dünndarmverdaulichkeit des nutzbaren Rohproteins abgeschätzt wurden (s. 3.1.4.5.), erfolgte keine statistische Auswertung. Es zeigte sich eine annähernd konstante Stickstoffausscheidung mit dem Kot (zwischen 90 und 110 g N/Tag). Dagegen stieg die N-Ausscheidung im Harn deutlich mit steigender N-Versorgung an. Bei einer Überversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff (RNB +0.3 g/MJ ME) betrug die mittlere tägliche Harn-N-Ausscheidung bei 262 g N/Tag. Bei zunehmender Unterversorgung sank die N-

Ausscheidung im Harn bis auf etwas über ein Viertel ab (bei einer RNB von -0.6 auf 67 g N/Tag).

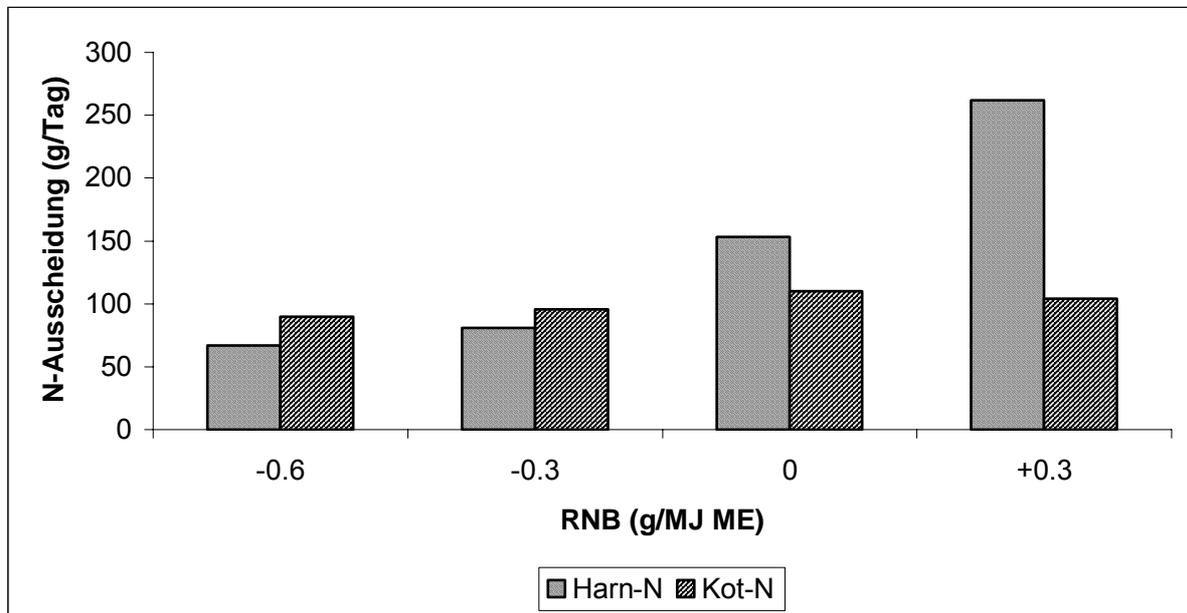


Abbildung 9: Mittlere tägliche N-Ausscheidung im Harn und Kot bei unterschiedlicher RNB

#### 4.8. Serumkonzentrationen ausgewählter Parameter des Leberstoffwechsels

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden in den Blutproben zusätzlich die Gehalte an einigen, die Leberfunktion beschreibenden, Parametern bestimmt. Ein signifikanter Einfluss der unterschiedlichen ruminalen Stickstoffbilanz auf den Cholesterin- und Bilirubingehalt sowie auf den Gehalt an  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ GT) konnte nicht festgestellt werden (Tabelle 18).

Tabelle 18: Serum-Konzentrationen an Glutamatdehydrogenase (GLDH), Aspartat-Amino-Transferase (AST),  $\gamma$ -Glutamatttransferase (GGT), Cholesterin (CHOL) und Gesamtbilirubin (GB)

Parameter	-0.6	-0.3	0	+0.3
GLDH (U/l)	51,7 <sup>ab</sup> $\pm$ 43,2	47,3 <sup>a</sup> $\pm$ 17,4	19,1 <sup>bc</sup> $\pm$ 15,7	14,9 <sup>c</sup> $\pm$ 10,8
AST (U/l)	48,9 <sup>ab</sup> $\pm$ 19,7	51,6 <sup>a</sup> $\pm$ 4,0	36,3 <sup>b</sup> $\pm$ 10,6	45,0 <sup>ab</sup> $\pm$ 26,3
GB ( $\mu$ mol/l)	3,2 $\pm$ 1,6	3,2 $\pm$ 1,7	3,3 $\pm$ 1,4	3,5 $\pm$ 0,9
GGT (U/l)	31,0 $\pm$ 11,8	34,4 $\pm$ 11,7	38,1 $\pm$ 21,2	25,4 $\pm$ 9,3
CHOL (mmol/l)	4,0 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 0,4	4,2 $\pm$ 0,8	4,0 $\pm$ 0,4

Die signifikant geringste Aktivität an Glutamatdehydrogenase wurde in den Serumproben der Tiere bei der höchsten RNB-Versorgung (14,9  $\pm$ 10,8 U/l) analysiert. Dagegen konnte die höchste Konzentration bei der niedrigsten ruminalen Stickstoffbilanz (bei -0.6: 51,7  $\pm$ 43,2 U/l) festgestellt werden (s. Tabelle 18). Die hohen Standardabweichungen, insbesondere in der Versorgungsstufe -0.6 g RNB/MJ ME sowohl in der Aktivität der Glutamatdehydrogenase als auch der Aspartat-Amino-Transferase (AST) beruhten auf den hohen tierindividuellen Schwankungen (s. Tabelle 18). Für AST zeigte sich die geringste Aktivität bei ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz (0) sowie der höchste Gehalt bei geringer Unterversorgung (RNB -0,3 g/MJ ME).

## 5. DISKUSSION

### 5.1. Milchleistung und Milchinhaltsstoffe

Eine statistische Auswertung der Milchleistung und Milchinhaltsstoffe wurde aufgrund der unterschiedlichen Leistungen der Tiere und des variierenden Tierbesatzes der Versorgungsstufen nicht durchgeführt. Es zeigte sich aber tendenziell bei steigender ruminaler Stickstoffbilanz ein Anstieg der Milchleistung und des Milchfettgehaltes (s. 4.4., Tabelle 12).

In Anlehnung an diese Arbeit wurde an der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Braunschweig ein Versuch mit 30 Milchkühen über einen Versuchszeitraum von 121 Tagen durchgeführt. Den Tieren wurde eine Ration aus Maissilage und Kraftfutter ad libitum als TMR vorlegt. Der Bedarf der Tiere an NEL und nXP wurde im Mittel gedeckt. Die Tiere wurden in zwei ausgeglichene Gruppen geteilt. Ebenso wie im vorliegenden Versuch erfolgte bei „RNB minus“ keine Harnstoffzulage (RNB - 0,65 g/MJ ME) und bei „RNB plus“ eine Harnstoffsupplementierung auf RNB = +0,18 g/MJ ME. Es zeigte sich, dass bei einer negativen ruminale Stickstoffbilanz von -0,65 g/MJ ME die Milchleistung sowie der Milchproteingehalt (% und g/Tag), gegenüber einer positiven RNB (+0,18 g/MJ M) signifikant reduziert waren. Die Futteraufnahme war bei einer negativen RNB ebenfalls signifikant reduziert. Ein entsprechender Einfluss einer negativen ruminale Stickstoffbilanz auf Milchleistung und Milchinhaltsstoffe war somit Folge einer reduzierten Futteraufnahme, vermutlich bedingt durch verminderte Fermentationsleistungen im Pansen (KRIETE et al. 2004). HOLTHAUSEN et al. (2000) überprüften an vier Milchkühen den Einfluss einer negativen ruminale Stickstoffbilanz (-5 g N/ kg T). Bei gleicher NEL- und nXP-Versorgung sowie gleicher Futteraufnahme zeigte sich eine annähernd gleiche Milchleistung bei ebenfalls unverändertem Milchfett- und Milchproteingehalt. Ebenso wie in der vorliegenden Arbeit kann jedoch aufgrund der sehr geringen Tierzahl eine fundierte Schlussfolgerung bezüglich der Leistungsparameter nicht getroffen werden. RUIZ et al. (2001) führten Untersuchungen zum Einfluss eines ruminale Stickstoff-

defizites auf die Milchproduktion durch. Rationen mit 8; 10 und 13% XP i. T hatten in Prozent der Empfehlungen (CNSP) eine ruminale N-Bilanz von 92,3; 108,2 und 132,3 %. Die Milchleistung unterschied sich signifikant zwischen allen drei Gruppen. Aber auch hier kann durch die ebenfalls signifikant reduzierte Futteraufnahme, eventuell aufgrund einer geringeren Fermentation, der direkte Einfluss der ruminale Stickstoffbilanz auf die Milchparameter nicht abgesichert werden. Ein verminderter Milchprotein- und -fettgehalt zeigte sich lediglich in der mit ruminal verfügbarem Stickstoff unterversorgten Gruppe (92,3 %) gegenüber den beiden überversorgten Gruppen (108,2 und 132,2 %). Dabei ließ die vorliegende kurze Darstellung der Versuche nicht eindeutig erkennen, wie die ruminale Stickstoffbilanz bzw. die entsprechende Bedarfsdeckung erfolgte. Es erscheint fragwürdig, dass bei einem Rohprotein-gehalt von 10% i. T, bei 20%-iger Harnstoffsupplementierung eine 108,2%-ige Deckung des Bedarfes an ruminal verfügbarem Stickstoff erreicht werden konnte. Die reduzierte Futteraufnahme auch in dieser Gruppe sowie der Blutharnstoff-N-Gehalt von nur 3,2 mmol/l (s. 5.7.) deuten eher auf einen N-Mangel hin. KLUTH et al. (2003) konnten bei bedarfsdeckender nXP-Versorgung keine signifikante Erhöhung der Milchleistung und des Eiweißgehaltes bei positiver ruminale Stickstoffbilanz feststellen.

Es zeigte sich somit, dass die Literatursagen über den Einfluss des pansenverfügbaren Stickstoffs auf die Milchleistung und die Milchbestandteile sehr unterschiedlich sind. Zudem werden nur selten Angaben über die nXP-Versorgung der Tiere gemacht. HA & KENNELLY (1984) und PUTNAM & VARGA (1998) fanden bei Rationen mit unterschiedlichen XP-Gehalten bei gleicher Proteinquelle (13; 15; 17 und 19% sowie 10,6; 12,7 und 14,5 % XP i. T) keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Milchleistung und -bestandteile. Auch MONTEILS et al. (2002) konnten bei einer Steigerung des XP-Gehaltes von 130 auf 145 bzw. 160 g/kg T und einem Defizit an ruminal abbaubarem Stickstoff (-10 g/kg T) keinen Unterschied in der Milchleistung feststellen. Es zeigte sich allerdings zwischen der Gruppe mit 130 g Rohprotein/kg T gegenüber der Gruppe mit 160 g/kg T ein signifikant erhöhter Protein-gehalt in der Milch.

KAUFFMANN et al. (1999) fanden bei Proteingehalten zwischen 15 und 18% i. T. signifikante Effekte auf die Milchleistung sowie den Milchfett- und -proteingehalt. Ebenso ermittelten SUSMEL et al. (1995) bei einer Harnstoffsupplementierung eine höhere Milchleistung und höhere Milchfettgehalte. Auch BRODERICK (2003) konnte bei einem steigenden XP-Gehalt (15,1; 16,7 und 18,4 % i. T) in den Rationen steigende Milchleistung, Milchfett- und -proteingehalte beobachten. Allerdings lag auch hier eine signifikant erhöhte Futteraufnahme vor und der Rohproteingehalt war höher als der in der vorliegenden Arbeit (zwischen 10,0 und 15,8 % XP i. T).

## **5.2. pH-Werte und flüchtige Fettsäuren im Pansensaft**

Die ermittelten pansenphysiologischen Parameter lassen Aussagen über eventuell vorliegende Störungen des Pansenmilieus und einer damit verbundenen Beeinträchtigung der Fermentationsprozesse zu. Sie werden durch die Rationsgestaltung entscheidend beeinflusst. Nach ORTH & KAUFMANN (1961) können die pH-Werte bei zellulosereicher Fütterung auf 6,2 bis 6,7 ansteigen und bei stärkereicher Fütterung im Extremfall bis auf 5,2 absinken. Bei zellulosereicher Fütterung ist zudem ein weites Acetat:Propionatverhältnis (bis 4:1) und bei stärkereicher Fütterung ein enges C2:C3-Verhältnis (bis 1,5:1) zu erwarten. Die in der vorliegenden Arbeit gemessenen mittleren pH-Werte von 6,3 bis 6,5 und C2:C3-Verhältnisse zwischen 2,7:1 und 3,2:1 spiegeln das Grund-Krafftutterverhältnis von 50:50 sehr gut wider.

Die über fünf Stunden nach Fütterungsbeginn ermittelten pH-Werte (s. Abschnitt 4.5.1., Abb. 5, Anhang 9.1.) lagen ebenfalls im physiologischen Bereich (KAUFMANN 1972). Lediglich der bei der niedrigsten RNB-Versorgung zum Ende des Messzeitraumes bestimmte Wert von 6,1 lag geringfügig unter dem für die Proteolyse und Desaminierung von LEWIS & EMERY (1962) als optimal angegebenen Wert von 6,2. Die Unterschiede im Verlauf der pH-Werte lassen sich aufgrund der hohen tierindividuellen Schwankungen, u.a. bedingt durch das unterschiedliche Fressverhalten der Tiere, statistisch nicht absichern. Der größte Unterschied zwischen den pH-Werten ging mit der größten Differenz der Harnstoffmenge im Krafftutter einher. Da die letzte Krafftuttergabe vor der ersten Pansensaftentnahme bereits

über 12 Stunden zurücklag, während bei der letzten Entnahme die Krafftuttergabe erst 5 Stunden zuvor erfolgt war, erreichten die pH-Werte im Versuchszeitraum ihren Ausgangswert bei allen vier Versorgungsstufen noch nicht wieder (s. Abb. 5).

GABLER & HEINRICHS (2003) untersuchten an fistulierten Milchkühen den Einfluss steigender Futterproteingehalte (11,9; 16,7; 18,1 und 20,1% XP in T) bei gleich bleibender Energieversorgung auf Parameter der Pansenfermentation (Pansen-Ammoniak-N, pH-Wert, flüchtige Fettsäuren) sowie einige Größen der N-Ausscheidung (Blutplasma-Harnstoff und Urin-N-Gehalt). Bei unterschiedlichem N-Eintrag in den Pansen konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den pH-Werten festgestellt werden. Der tendenziell höchste Wert fünf Stunden nach Fütterungsbeginn (6,6) wurde im Gegensatz zum vorliegenden Versuch bei dem niedrigsten XP-Gehalt (11,9%) gemessen. Zu diesem Messzeitpunkt waren die pH-Werte der anderen drei Versorgungsstufen annähernd gleich (6,2 bis 6,3). Auch KIRKPATRICK & KENNELLY (1989) konnten bei unterschiedlichen Proteingehalten in der Ration (16,5 und 19,4% i. T) keinen signifikanten Einfluss der Fütterung auf den mittleren pH-Wert feststellen. Ebenso blieb der pH-Wert bei Verfütterung einer Ration mit 11,1% XP von einer steigenden ruminalen Ammoniakinfusion (0, 95, 190, 280 g NH<sub>3</sub>/Tag) bei Versuchen von SONG & KENNELLY (1990) unbeeinflusst.

In Untersuchungen zur N-Ausnutzung aus Rationen mit unterschiedlichen XP-Gehalten (130, 145 und 160 g/kg T) und einem, durch unterschiedliche Anteile verschiedener N-Quellen (ein Gemisch aus Sojaextraktionsschrot und Rapsmehl), in allen Rationen erreichten Defizit an pansenverfügbarem Stickstoff (-10g/kg T), beschrieben MONTEILS et al. (2002) dagegen einen signifikanten Effekt auf den pH-Wert. Bei dem höchsten XP-Gehalt (160 g/kg T) zeigte sich der signifikant niedrigste mittlere pH-Wert gegenüber den sich nicht deutlich unterscheidenden Versorgungsstufen 130 und 145 g XP/kg T auf. Diese Untersuchungen wurden allerdings an nur drei fistulierten Milchkühen durchgeführt. Zudem sind durch die wechselnden Anteil der Proteinquellen sowie entsprechend angepasste wechselnde Mengen der anderen Rationskomponenten bedingte Effekte nicht auszuschließen.

Zusammenfassend zeigte sich in dem vorliegenden Versuch die höchste Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren (136,2 ±28,1 mmol/l) bei einer ausgeglich-

nen ruminalen Stickstoffbilanz, was auf eine intensive Fermentation hinweist. Gleichzeitig deutet der ebenfalls in dieser Versorgungsstufe höchste mittlere pH-Wert (6,5) auf gute Bedingungen für den Abbau von Strukturkohlenhydraten hin.

### **5.3. Ammoniak-N-Konzentration im Pansensaft und Duodenalchymus**

Durch den mikrobiellen Abbau der mit der Nahrung aufgenommenen Proteine und Nicht-Protein-Stickstoff-Verbindungen (NPN) entsteht im Pansen Ammoniak. Neben der aufgenommenen Menge an N-Verbindungen ist die Ammoniakkonzentration im Pansensaft von der Intensität des mikrobiellen Proteinabbaus und damit der Ammoniakproduktion, der Verwertung für die mikrobielle Proteinsynthese in Abhängigkeit von der Energieversorgung und der Absorption sowie dem Fluss in den weiterführenden Verdauungskanal abhängig.

Die  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Pansensaft stieg nach Fütterungsbeginn (s. 4.5.2., Abb. 6 und Anhang 9.2.) in allen vier Behandlungen an und erreichte nach 1-2 Stunden in Übereinstimmung mit Ergebnissen von GUSTFSSON & PALMQUIST (1993), KIRKPATRICK & KENNELLY (1989), MONTEILS et al. (2002) und GABLER & HEINRICHS (2003) den während des Messzeitraums höchsten Wert (3,9; 12,9; 13,8 und 20,3 mmol/l). Danach fiel die  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration kontinuierlich ab. Bei der niedrigsten RNB-Versorgung (-0.6) sank die Ammoniak-N-Konzentration 90 Minuten nach Fütterungsbeginn unter die von SATTER & SLYTER (1974) und SATTER & ROFFLER (1975) für eine optimale Pansenfermentation beschriebenen 3,6 mmol/l. PIATKOWSKI et al. (1990) geben für eine optimale Pansenfermentation eine ruminale  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration von 4-6 mmol/l an. Die Konsequenzen der niedrigen Ammoniak-N-Konzentration im Pansen in Hinblick auf die mikrobielle Proteinsynthese wird in Abschnitt 5.5. diskutiert.

FIRKINS et al. (1987) fanden in Versuchen an fistulierten Stieren mit Infusionen von 1,2% bzw. 4% Harnstoff, bezogen auf die Trockensubstanzaufnahme, einen annähernd gleichen zeitlichen Verlauf des ruminalen Ammoniakgehaltes zwischen den Behandlungen, aber auf signifikant unterschiedlich hohem Niveau. KIRKPATRICK & KENNELLY (1989) führte an fistulierten Milchkühen Untersuchungen zum Einfluss

der Art des supplementierten Proteins und des Proteingehaltes auf Pansenfermentation, Verdaulichkeit und mikrobielle Proteinsynthese durch. Sowohl bei Raps-, als auch Sojaextraktionsschrotsupplementierung, kam es bei steigendem Proteingehalt in der Ration (16,5 auf 19% XP i. T) zu einem signifikanten Anstieg der mittleren ruminalen  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration (von 10,9 auf 13,2 mmol/l bei Rapsextraktionsschrot und von 11,2 auf 17,7 mmol/l bei Sojaextraktionsschrot). Eine mögliche Erklärung für die insgesamt höhere Ammoniak-N-Konzentration im Pansen nach Einsatz des Sojaextraktionsschrotes, kann die nach den DLG-Futterwerttabellen für Wiederkäuer (1997) höhere Proteinverdaulichkeit des Sojaextraktionsschrotes (91%) gegenüber des Rapsextraktionsschrotes (84%) sein. HA & KENNELLY (1984) konnten einen linearen Anstieg der ruminalen  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration (1,7 bis 9,1 mmol/l) bei ansteigendem XP-Gehalt in der Ration (von 13 bis 19% XP i. T) feststellen.

In Abbildung 10 sind die  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentrationen drei Stunden nach Fütterungsbeginn und die „analysierten“ ruminalen Stickstoffbilanzen für jedes Einzeltier aufgezeigt.

Sie zeigt, dass die  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentrationen zu diesem Zeitpunkt bei einer „analysierten“ ruminalen N-Bilanz zwischen  $-0,3$  und  $-0,7$  bei fünf von sechs Tieren deutlich unter den für eine optimale Pansenfermentation beschriebenen 3,6 mmol/l (SATTER & SLYTER 1974 und SATTER & ROFFLER 1975) lagen. Dabei unterschritten die Werte von vier Tieren sogar noch die als kritisch angegebene Konzentration von 1,4 mmol/l (SATTER & ROFFLER 1975). Trotz der geringen Anzahl von Werten konnte ein Zusammenhang zwischen der ruminalen Stickstoffbilanz und der Ammoniak-N-Konzentration im Pansen (3 Stunden nach Fütterungsbeginn) abgesichert werden. Es ergab sich eine lineare Beziehung für die Schätzung der ruminalen  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration (mmol/l) anhand der „analysierten“ RNB (g/MJ ME) ( $r \cdot \text{NH}_3\text{-N} = 0,034 \cdot \text{RNB} - 0,536$ ;  $r^2=0,78$ ). Eine positive ruminale Stickstoffbilanz, d.h. ein Überschuss an pansenverfügbarem Stickstoff, ging mit einer ruminalen Ammoniak-N-Konzentration zwischen 16,9 und 23,5 mmol/l drei Stunden nach Fütterungsbeginn einher.

Bei steigenden XP-Gehalten (11,9 bis 20,1 % i. T) und gleich bleibendem Energiegehalt in der Ration fanden GABLER & HEINRICHS (2003) ebenfalls einen signifi-

kanten Anstieg der ruminalen Ammoniak-N-Konzentrationen (von 5,6 bis 11,5 mmol/l). Dabei lag der Ammoniak-N-Gehalt der Gruppe mit dem niedrigsten XP-Gehalt (11,9%) über 18 h des 24-stündigen Beobachtungszeitraumes unterhalb der beschriebenen optimalen Ammoniak-N-Konzentration von 3,6 mmol/l und ca. 6 Stunden unterhalb der kritischen Konzentration (1,4 mmol/l) für die mikrobielle Pansenfermentation. SONG & KENNELLY (1990) fanden in Versuchen mit steigender ruminaler Ammoniakinfusion bei gleicher Ration (11,1 % XP i. T) ebenfalls einen linearen Anstieg der ruminalen NH<sub>3</sub>-N-Konzentration. Dabei führte die niedrigste XP-Versorgung (ohne Ammoniakinfusion) über 7 Stunden des 11-stündigen Beobachtungszeitraumes ebenfalls zu einer suboptimalen Ammoniakkonzentration (zwischen 1,1 und 2,6 mmol/l). Dagegen konnte in dem lediglich an drei Tieren durchgeführten Versuch von MONTEILS et al. (2002) bei gleichem Defizit an ruminal fermentierbarem Stickstoff (-10 g/ kg T) und drei XP-Gehalten in der Ration (13 bis 16% i. T) einen Einfluss auf die mittlere NH<sub>3</sub>-N-Konzentration (9,3 bis 10,2 mmol/l) nicht feststellen. Die Konzentration sank dabei zu keinem Zeitpunkt unter 3,9 mmol/l. Maßgeblich für den NH<sub>3</sub>-N-Gehalt war somit der ruminal verfügbare Stickstoff und nicht der Rohproteingehalt. Weitere Einflussfaktoren auf die Höhe der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration (rezirkulierender Harnstoff, endogener N-Eintrag u.a. aus dem Speichel, rumino-hepatischer Kreislauf, Abb. 3, s. 2.3.2. und 5.3.) wurden in den oben genannten Arbeiten nicht erfasst.

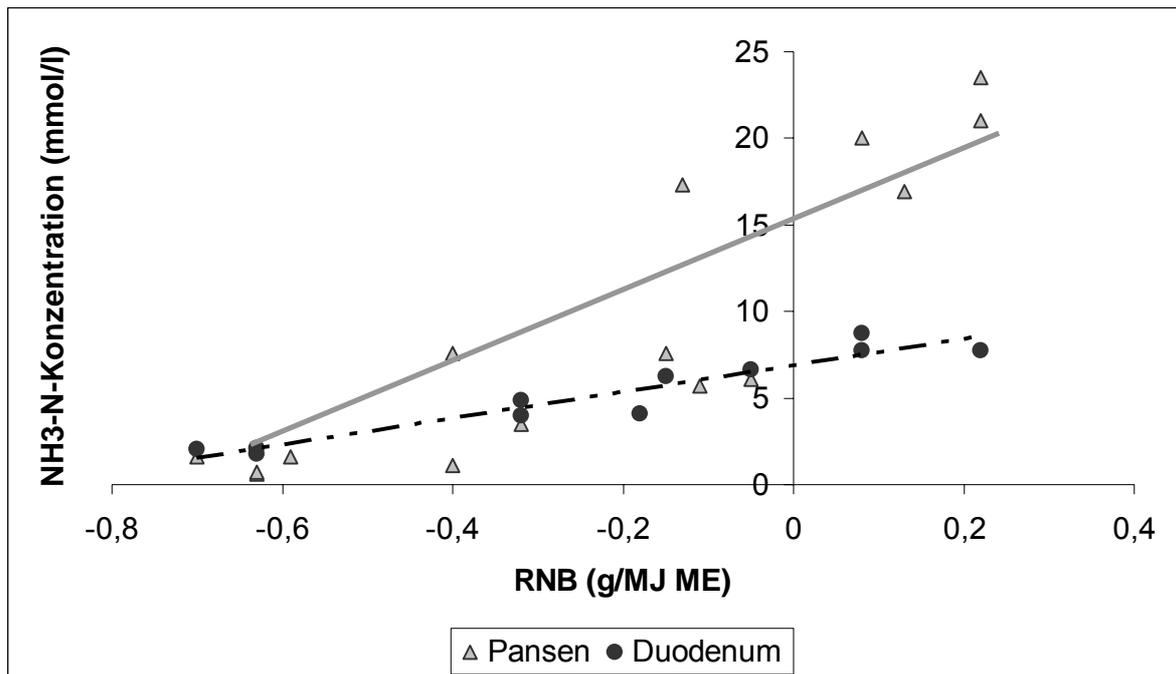


Abbildung 10: NH<sub>3</sub>-N-Konzentrationen im Pansen- und Darmsaft 3 Stunden nach Fütterungsbeginn in Abhängigkeit der „analysierten“ ruminalen Stickstoffbilanzen der Einzeltiere

Insgesamt lagen im Vergleich zu den Ammoniak-N-Konzentrationen in anderen Untersuchungen (KIRKPATRICK & KENNELLY 1989; MONTEILS et al. 2002 und GABLER & HEINRICHS 2003) die Ammoniak-N-Konzentrationen bei XP-Gehalten in der vorliegenden Arbeit von 10,0; 11,8; 13,8 und 15,8 % i. T. vergleichsweise hoch. Dies erklärt sich durch die schnelle und annähernd 100%-ige Freisetzung von Ammoniak aus dem Harnstoff in den Behandlungen dieses Versuches im Gegensatz zu den in den anderen Arbeiten eingesetzten verschiedenen N-Quellen mit unterschiedlichen ruminalen Abbaubarkeiten. So zeigte sich z.B. auch bei ERASMUS et al. (1994), dass der Einsatz von Sonnenblumenmehl mit der höchsten bestimmten ruminalen Abbaubarkeit (73%) gegenüber Blutmehl mit 52% Abbaubarkeit zur signifikant höchsten Ammoniak-N-Konzentration im Pansen (11,1 mmol/l gegenüber 6,3 mmol/l) führte. Bei anderen Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Proteinquellen auf die Pansenvorgänge von Schafen mit isonitrogenen und isoenergeti-

schen Rationen, zeigte die Ration mit Harnstoff die höchste Ammoniak-N-Konzentration (17,9 mmol/l) gegenüber 10,4 und 15,9 mmol/l beim Einsatz von Fischmehl bzw. Erdnussmehl (MERCER et al. 1980). Untersuchungen an fistulierten Stieren mit isonitrogener Ration, aber vier unterschiedlichen N-Quellen, ergaben für die, mit Harnstoff supplementierte Ration die höchste ruminale N-Abbaubarkeit (59%), den höchsten pH-Wert, aber nur die zweithöchste Ammoniak-N-Konzentration (6,5 mmol/l) (GARRETT et al. 1987). In diesen Untersuchungen wies die Behandlung mit Leinsamenextraktionsschrot bei zweithöchster ruminale N-Abbaubarkeit (54%) die höchste NH<sub>3</sub>-N-Konzentration im Pansen (8,4 mmol/l) auf. Dies kann allerdings durch die höhere Stickstoffaufnahme bedingt sein. Die in Arbeiten von SATTER & ROFFLER (1975) als optimal für die mikrobielle Proteinsynthese angegebene Ammoniak-N-Konzentration von 3,6 mmol/l entsprach in ihren Versuchen einem XP-Gehalt in der Ration von 13%. Diese Empfehlung für eine ausreichende Rohprotein-konzentration in der Ration muss aber vor dem Hintergrund der entsprechenden N-Quelle und der ruminalen Verfügbarkeit gesehen werden. In der vorliegenden Arbeit ist die optimale ruminale NH<sub>3</sub>-N-Konzentration bereits bei der Versorgungsstufe mit einem geringen Defizit an pansenverfügbarem Stickstoff, d.h. einer RNB von -0.3 g/MJ ME, erreicht und entspricht einem XP-Gehalt von 11,8 %. HA & KENNELLY (1984) fanden in ihren Untersuchungen mit Rapssupplementierung (0; 12; 24 bzw. 26 % i. T) als Proteinquelle erst bei einem Gehalt von 15% XP i. T eine optimale Ammoniak-N-Konzentration, dagegen sowohl bei 13 als auch bei 19% XP i. T suboptimale Werte. Dabei ist zu berücksichtigen, dass es bei steigender Zulage von Raps gleichzeitig zu einer Reduzierung des Gersteanteils in den Rationen kam. RODRIGUEZ et al. (1997) ermittelten bei einem höheren Anteil an ruminal unabbau-barem Protein (41% gegenüber 29% des XP) eine signifikant niedrigere Ammoniak-N-Konzentration im Pansen (6,3 gegenüber 3,5 mmol/l).

Das im Pansen gebildete Ammoniak verbleibt, soweit es nicht von den Pansenmikroorganismen für die mikrobielle Proteinsynthese genutzt wird, in geringem Umfang im Verdauungstrakt oder gelangt über die Pansenwand in das Blut.

Ebenso wie die mittlere  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Pansensaft stieg die mittlere Ammoniak-N-Konzentration im Duodenalchymus, drei Stunden nach Fütterungsbeginn, bei höherer Versorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff an (s. 4.6.1., Abb. 7 und Anhang 10). Es zeigte sich aber, dass der Anstieg deutlich flacher verlief und die höchste Konzentration mit 8,7 mmol/l nur weniger als der Hälfte der maximalen  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Pansensaft betrug. Bei sehr niedriger ruminaler N-Bilanz (-0.6) lag jedoch der  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt im Pansensaft etwa auf gleichem Niveau wie im Duodenalchymus (s. 4.6.1., Abb. 7 und 8, s. Anhänge 9.1 und 10). Dagegen sank bei zunehmender ruminaler Stickstoffbilanz die Ammoniak-N-Konzentration im Duodenum letztlich unter die  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Pansensaft. Das deutet darauf hin, dass mit zunehmender Ammoniak-N-Konzentration im Pansen der Anteil der durch die Mikroben genutzt und/oder durch die Pansenwand absorbiert wird, relativ zum Anteil der in den Dünndarm übergeht, zunimmt. So konnte die größte Differenz zwischen der ruminalen und der duodenalen Ammoniakkonzentration (13,2 mmol/l mehr im Pansensaft) bei dem Tier mit der höchsten „analysierten“ ruminalen Stickstoffbilanz von +0,22 g/MJ ME ermittelt werden (s. Abb. 10). HA & KENNELLY (1984) untersuchten auch den Einfluss eines steigenden Rohproteingehaltes (13, 15, 17 und 19%) durch zunehmende Rapsextraktionsschrotzulagen (0, 12, 24, 36%) u.a. auf die Fermentationsleistung. Bei einem linearen Anstieg der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration zeigte sich nur ein geringer, nicht signifikanter Anstieg der duodenalen Ammoniakkonzentration. Die tendenziell höchste Ammoniak-N-Konzentration im Darmchymus konnte bei dem höchsten Rohproteingehalt (19%) ermittelt werden. Die Korrelation zwischen beiden Größen war aber gering, da eine Reihe weiterer Faktoren die Nutzung der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration und somit die Höhe des in den Duodenum gelangenden Ammoniaks eine Rolle spielen. Auch in Untersuchungen von KIRKPATRICK & KENNELLY (1989) mit unterschiedlichen Proteinquellen und Proteingehalten konnte festgestellt werden, dass die Höhe der duodenalen

NH<sub>3</sub>-N-Konzentration die Verhältnisse der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration widerspiegelt.

Mit zunehmender Versorgung an pansenverfügbarem Stickstoff stieg im vorliegenden Versuch der Anteil des Ammoniaks am Gesamtstickstoffgehalt im Darmchymus von 2,1 auf 5,9%. Durch die unterschiedliche ruminale Stickstoffbilanz variierte der Anteil an NH<sub>3</sub>-N am Gesamt-N im Darmchymus somit stärker als in den Versuchen von SCHAFFT (1983), ENGLING (1988) und KRASTANOVA (1993). Der Mittelwert in diesen Versuchen betrug 5,2% mit einer Standardabweichung von lediglich  $\pm 1,8$ . Insbesondere bei einer RNB von -0.6 g/MJ ME wäre die Menge an NH<sub>3</sub>-N im Duodenum bei Annahme des oben genannten Mittelwertes um etwa 10 g überschätzt und somit die Menge an nXP um ca. 60 g unterschätzt worden.

#### **5.4. Stickstofffluss am Duodenum**

Wie in Abschnitt 4.6.3. (Tabelle 15) beschrieben, überstieg bei Unterversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff (-0.6 und -0.3 g RNB/MJ ME) sowie bei ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME) der Stickstofffluss am Duodenum die Stickstoffaufnahme deutlich. Bei der stärksten Unterversorgung (-0.6) gelangten ca. 28% mehr Stickstoff in das Duodenum als aufgenommen wurden. Dagegen erreichten bei positiver RNB nur etwa 94% des aufgenommenen Stickstoffs das Duodenum (s. Abb. 11). Nach CLARK et al. (1992) kann bei begrenzter Energiemenge überschüssiger Stickstoff (hauptsächlich in Form von Ammoniak) nicht mehr für die mikrobielle Proteinsynthese genutzt werden und wird schließlich als Harnstoff ausgeschieden. Dies führt dazu, dass der duodenale Stickstoff-Fluss geringer als die Aufnahme ist.

Ein duodenaler Stickstoff-Fluss, der über der aufgenommenen Menge an Stickstoff liegt (>100%), beruht zum einen auf in den Verdauungstrakt sezerniertem, endogenem Stickstoff und zum anderen auf der Nutzung des über den rumino-hepatischen Kreislauf (s. 2.3.2., Abb. 3) in den Pansen rezirkuliertem Stickstoff für die mikrobielle Proteinsynthese. Die Höhe dieses N-Recyclings ist insbesondere von der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration abhängig. BUNTING et al. (1989a und b) untersuchten

bei wachsenden Rindern den Übergang von Harnstoff aus dem Blut in den Pansen bei unterschiedlicher Stickstoffaufnahme (66,5 g N/Tag bzw. 126,1 g N/Tag). Die Gruppe mit geringerer Stickstoffversorgung zeigte bei einer signifikant niedrigeren ruminalen Ammoniak-N-Konzentration eine höhere Urease-Aktivität der fakultativ ureolytischen Bakterien an der Pansenwand. Dagegen war die Expression der Urease dieser Bakterien bei höherer Ammoniak-N-Konzentration (entspricht höherer N-Aufnahme) im Pansen signifikant niedriger. Durch Ureasen wird aus Harnstoff Ammoniak gebildet. Bei vorangegangenen Versuchen mit Lämmern wurde dabei eine geringere Diffusion von Ammoniak zurück in den Pansen festgestellt (BUNTING et al. 1987). Da durch die Ureasen der Bakterien Ammoniak aus Harnstoff gebildet wird, konnte durch die niedrigere Expression der Urease die Erklärung dafür gegeben werden.

Ebenso fanden NEUTZE et al. (1986) bei Untersuchungen an Schafen mit steigender Harnstoffsupplementierung (3,5; 5,9 und 11,6 g Harnstoff-N/kg T) einen signifikant abnehmenden Transfer von Harnstoff aus dem Blut in den Pansen.

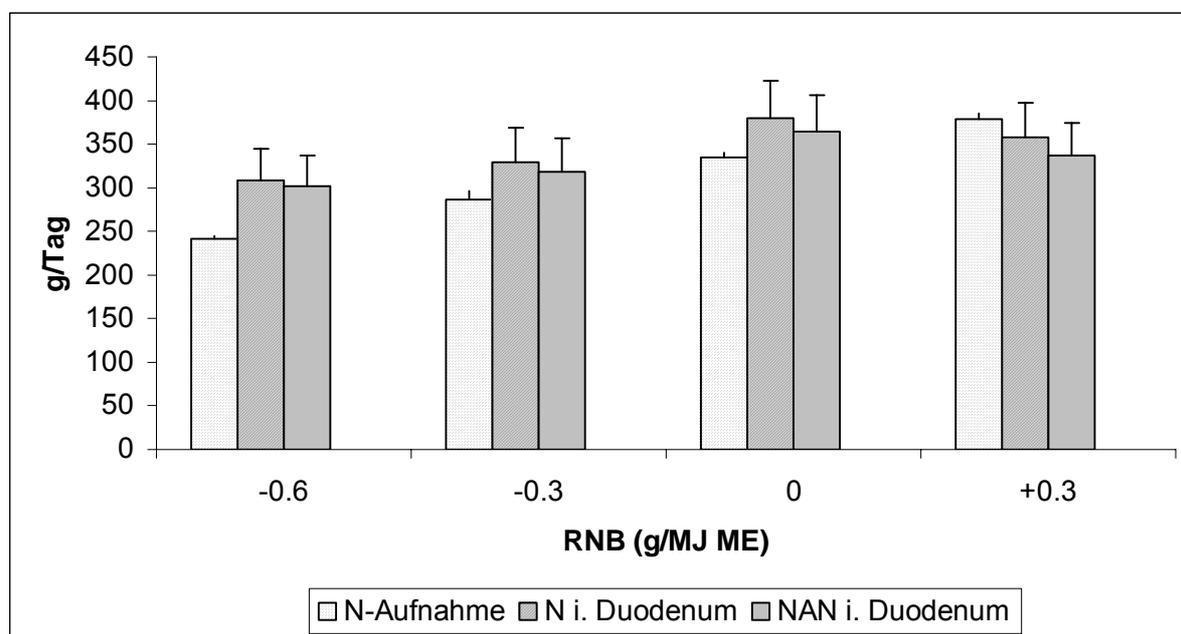


Abbildung 11: Stickstofffluss am Duodenum bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz

Der Nicht-Ammoniak-N-Fluss (s. Abb. 11) war ebenfalls bei ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME) am höchsten. Mit Ausnahme der Behandlung +0.3 war auch die Menge an Nicht-Ammoniak-N größer als die aufgenommene Stickstoffmenge. Dies deutet in Anlehnung an McALLAN et al. (1986) bei ausgeglichener und negativer ruminaler Stickstoffbilanz auf eine sehr effiziente Nutzung des freigesetzten Ammoniak-Stickstoffs für die mikrobielle Proteinsynthese hin. Nach Abzug des unabgebauten Futterproteins vom aufgenommenen Protein erhält man den ruminal abbaubaren Anteil des Proteins (RDP). Dabei geht das NRC (2001) davon aus, dass nur 85% des aus dem Futterprotein freigesetzten Stickstoffs für die mikrobielle Proteinsynthese genutzt werden. In der vorliegenden Arbeit wurden bei einer Unterversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff rechnerisch ein Anteil von  $116 \pm 18 \%$  (-0.6 g RNB/MJ ME) und  $101 \pm 16 \%$  (-0.3 g RNB/g MJ ME) Mikrobenprotein am RDP festgestellt. Wie hoch der Anteil des über rezirkulierenden bzw. endogenen Eintrag, zusätzlich zur Verfügung stehenden Stickstoffs dabei ist, konnte nicht berechnet werden. Bei einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME) macht das Mikrobenprotein rechnerisch noch  $100 \pm 15 \%$  des RDPs aus. Dagegen lag dieser Wert bei einer positiven RNB (+0.3 g/MJ ME) nur noch bei  $76 \pm 11\%$ . Dies deutet darauf hin, dass bei einer Limitierung durch Stickstoff der zur Verfügung stehende Stickstoff effizient zu beinahe 100 % genutzt wird. Bei ausgeglichener und insbesondere bei positiver ruminaler Stickstoffbilanz sinkt die Nutzung durch die Energielimitierung.

Im vorliegenden Versuch kam es insbesondere bei einer positiven Stickstoffbilanz im Mittel nur zu einer 91%-igen Deckung des NEL-Bedarfs der Tiere, so dass der im Überschuss zur Verfügung stehende Stickstoff insbesondere von den Tieren mit einer deutlichen Unterversorgung an NEL nicht ausreichend genutzt werden konnte. So zeigte z. B. das Tier mit nur 58% Deckung seines NEL-Bedarfs in der Versorgungsstufe +0.3 g RNB/MJ ME lediglich einen MikrobenN-Anteil von 69% am NAN. Dieses Tier erreichte allerdings bei einer 94%-igen Deckung seines NEL-Bedarfs in der Versorgungsstufe -0.3 g RNB/MJ ME ebenfalls nur einen Anteil von 69% Mikro-

ben-Stickstoff am NAN. Die Syntheseleistung der Pansenmikroorganismen muss somit unter den Bedingungen sowohl der Stickstoffbereitstellung, als auch der Energieversorgung beurteilt werden (s. auch 5.5.).

## **5.5. Mikrobielle Proteinsynthese und Futterproteinabbau**

Trotz der tierindividuellen Schwankungen zeigte sich bei der stärksten Unterversorgung mit ruminal verfügbarem Stickstoff (RNB = -0.6 g/MJ ME) eine im Mittel signifikant geringere Syntheseleistung der Pansenmikroorganismen als bei ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz (s. 4.6.4., Tabelle 16). Die größte Menge an Mikrobenprotein bei einem Einzeltier konnte bei einer „analysierten“ RNB von ca. -0,2 g/MJ ME ermittelt werden (1841 g MP/Tag) (s. Abb. 12). Die Korrelation zwischen ruminaler Stickstoffbilanz und mikrobieller Proteinsyntheseleistung war jedoch mit  $r^2 = 0,1$  nur sehr gering.

Weder die Einzeltierwerte noch die Mittelwerte für die Versorgungsstufen wiesen bei einer Überversorgung mit ruminal verfügbarem Stickstoff einen weiteren Anstieg der mikrobiellen Proteinsynthese auf. Sie schienen sogar eher wieder abzunehmen (s. Abb. 12 und Tabelle 16).

MAENG et al. (1975) wiesen bereits auf die Bedeutung des Schwefels für die Pansenmikroorganismen hin. Insbesondere das Verhältnis des Schwefels zum Stickstoff ist für die mikrobielle Proteinsynthese von Bedeutung (WHANGER et al. 1978). In der vorliegenden Arbeit kam es durch steigende Anteile an Harnstoff zu einer Erweiterung des N : S-Verhältnisses von 10 : 1 auf 16 : 1 (s. 4.3., Tabelle 11 und Anhang 5). Nach Empfehlungen der GfE (2001) sollte das Stickstoff : Schwefel-Verhältnis etwa 15 : 1 betragen. ZINN et al. (1997) geben einen Wert von 16 : 1 mit einer Spanne zwischen 13 : 1 und 21 : 1 an. Lediglich die Behandlung mit einer positiven ruminalen Stickstoffbilanz von +0.3 g/MJ ME lag demnach geringgradig über dem von der GfE (2001) angegebenen Wert, aber noch in dem von ZINN et al. (1997) angegebenen Bereich. Mit einer Beeinträchtigung der mikrobiellen Proteinsynthese in der Versorgungsstufe +0.3 g RNB/MJ ME durch einen Mangel an Schwefel ist somit nicht zu rechnen. Selbst wenn eine limitierte S-Versorgung eine Steigerung der mikrobiellen

Proteinsynthese mit zunehmender RNB verhindert haben sollte, so lässt sich dadurch zumindest nicht die tendenzielle Abnahme gegenüber der Versorgungsstufe 0 g RNB/MJ ME erklären.

Nach Angaben von DE JONG et al. (1997) ist bei zweimaliger täglicher Fütterung und der damit schwankenden RNB eine Beeinträchtigung des als konstanten Prozesses anzusehenden Eiweißsynthese zu befürchten. Sie empfehlen daher zur Sicherheit eine positive RNB. Aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit erscheint diese Sicherheitsspanne keinen positiven Effekt auf die mikrobielle Proteinsynthese zu haben.

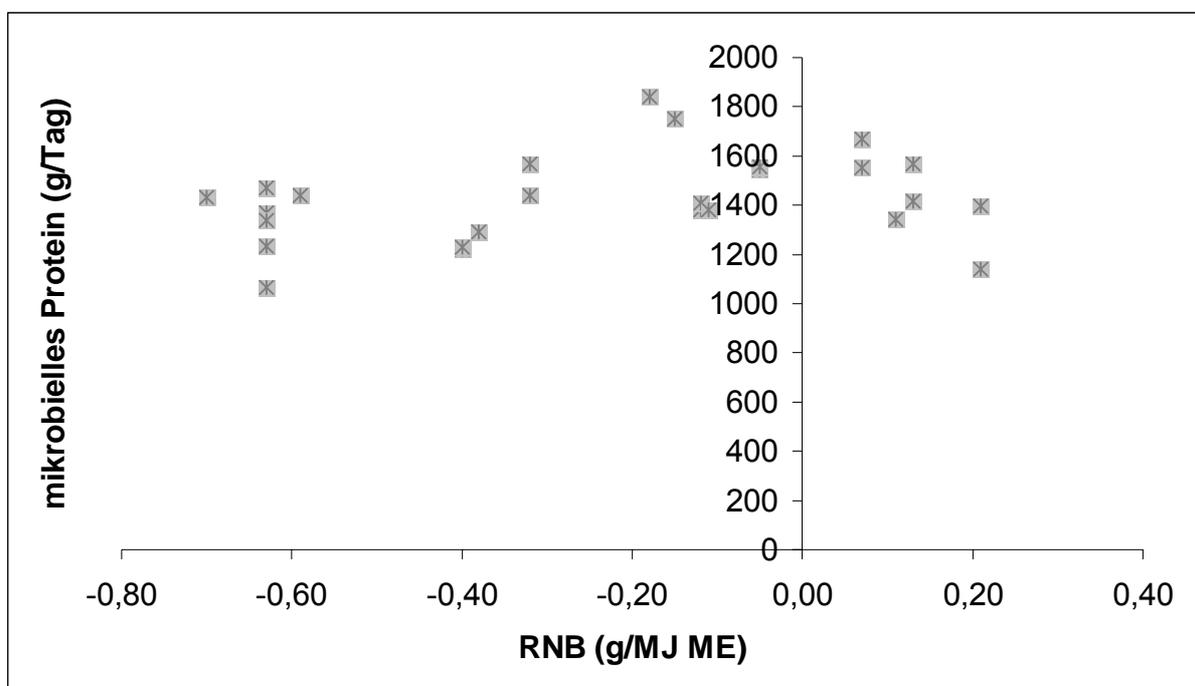


Abbildung 12: Tägliche mikrobielle Proteinsynthese bei den Einzeltieren in Abhängigkeit von der „analytierten“ ruminalen Stickstoffbilanz

Die Menge an mikrobiell gebildetem Protein wird maßgeblich durch die im Pansen verfügbare Energie- und Stickstoff-Menge (CLARK et al. 1992) sowie deren Verhältnis zueinander bestimmt. Die Werte in der vorliegenden Arbeit für die Menge an mikrobiellem Protein, bezogen auf die umsetzbare Energie variierten mit 7,7 bis 8,8 g

MP/MJ ME niedriger als der von LEBZIEN (1996) angegebene Mittelwert von 10,3 g MP/MJ ME, jedoch innerhalb des Variationsbereiches von 7,1 bis 14,0 g/MJ ME.

Insbesondere die Tiere, die extrem abweichende Werte bezüglich der Deckung ihres NEL-Bedarfs aufwiesen, sollten gesondert angesprochen werden (s. Anhang 6). In der Versorgungsstufe +0.3 g RNB/MJ ME erreichte das Tier mit einer nur 58%-igen Deckung seines NEL-Bedarfs eine mikrobielle Proteinsyntheseleistung von 1,4 kg/Tag. Diesen Wert erreichte es ebenfalls bei der stärksten Unterversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff (-0.6 g RNB/MJ ME), bei allerdings 107%-iger Deckung seines NEL-Bedarfs. Dies bestätigt sowohl die Bedeutung der Stickstoffbereitstellung als auch der Energieversorgung. Ähnliches zeigte sich bei dem Tier mit den höchsten Werten für die Deckung seines NEL-Bedarfs. In der Versorgungsstufe -0.3 g RNB/MJ ME wurde sein Bedarf mit 130% übererfüllt. Die mikrobielle Proteinsynthese lag zu diesem Zeitpunkt bei 1,6 kg/Tag. Dieses Tier wies ebenfalls den höchsten Wert für die mikrobielle Proteinsynthese (1,8 kg/Tag) auf. Diesen Wert erreichte es mit 125%-iger Deckung seines NEL-Bedarfs. Dagegen wurde sein Bedarf in der höchsten Versorgungsstufe (+0.3 g RNB/MJ ME) nur zu 90% gedeckt. In Übereinstimmung mit der bereits beschriebenen Bedeutung der Stickstoff- und Energieversorgung wurde zu diesem Zeitpunkt bei geringster Energieversorgung, die für dieses Tier niedrigste mikrobielle Proteinsyntheseleistung (1,3 kg/Tag) ermittelt.

Es zeigte sich, dass der Anteil des Mikrobenstickstoffs am Nicht-Ammoniak-Stickstoff bei einer RNB von -0.6 g/MJ ME am höchsten war (70,8% gegenüber 68,0 bis 68,3%). Dies beruht auf einem geringeren, durch Subtraktion des Mikrobenproteins vom nXP ermittelten, UDP-Anteil am NAN bei einer ruminalen Stickstoffbilanz von -0.6 g/MJ ME (s. Abb. 13 und Tabelle 16). Es scheint, dass ein Teil des Stickstoffmangels für die mikrobielle Proteinsynthese durch einen verstärkten Futterproteinabbau ausgeglichen wurde. Dagegen gelangte bei ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz (RNB = 0) die signifikant größte Menge an UDP (s. 4.6.4., Tabelle 13 und Abb. 16) in das Duodenum. Der Abfall der UDP-Menge bei Überversorgung mit ruminal verfügbarem Stickstoff (RNB +0.3 g/MJ ME) ist jedoch nur schwer zu erklären.

VOIGT & PIATKOWSKI (1987) führten Untersuchungen für die Proteinbewertung der Futtermittel beim Wiederkäuer mittels Beuteltechnik durch. Dabei fanden sie eine positive Beziehung zwischen der Fermentationshöhe der Trockensubstanz und des Rohproteins. Daraus folgte eine negative Korrelation zwischen dem Mikrobenprotein und dem unabgebautem Futterprotein. Dieser negative Zusammenhang konnte in der vorliegenden Arbeit nicht beobachtet werden, da die RNB-Versorgungsstufe mit der höchsten mikrobiellen Proteinsyntheseleistung auch den höchsten Gehalt an unabgebautem Futterprotein aufwies. Es handelte sich hierbei aber um Behandlungen, die sich lediglich im Harnstoffgehalt und somit in der Gesamt-N-Aufnahme unterschieden.

Die Höhe des Futterproteinabbaus wies im Vergleich zur nXP-Menge und der Menge an mikrobiellem Protein eine höhere Korrelation zur ruminalen Stickstoffbilanz (RNB  $\text{g/MJ ME} = 0,002 * \text{UDP (g/Tag)} - 0,927$ ;  $r^2 = 0,26$ ;  $p < 0,01$ ) auf.

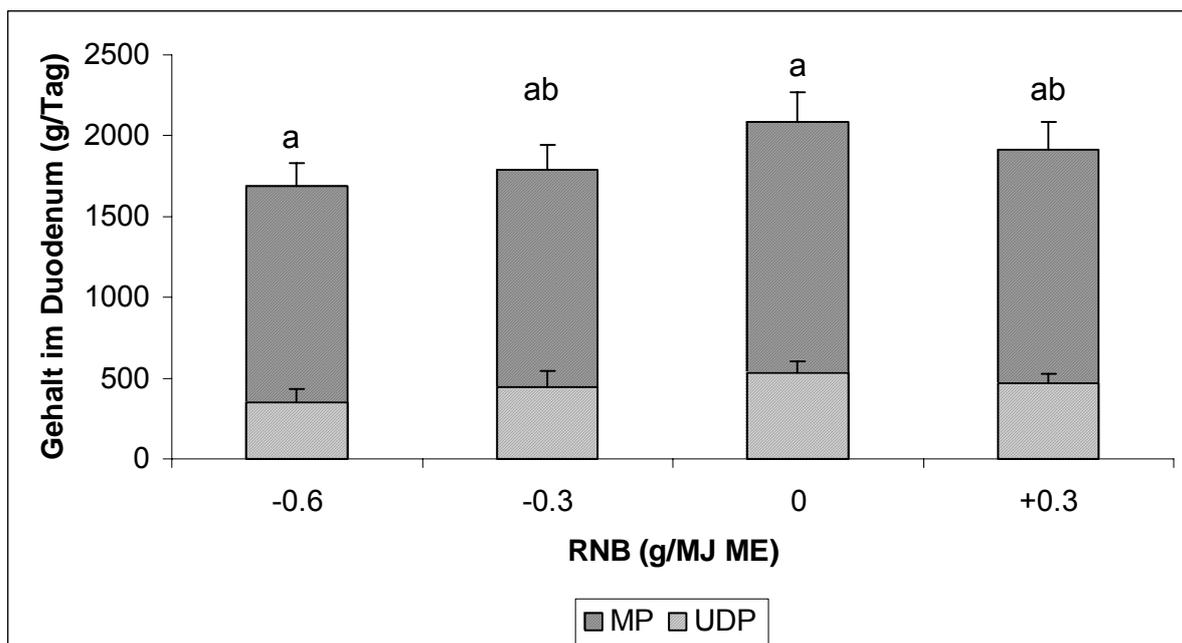


Abbildung 13: Menge an mikrobiellem Protein (MP) und an unabgebautem Futterprotein (UDP) am Darm bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz (MP+UDP=nXP)

Die in der vorliegenden Arbeit bestimmten Werte für den mikrobiellen Stickstoffanteil am Nicht-Ammoniak-Stickstoff waren vergleichbar mit dem von LEBZIEN & PAUL (1997) gefundenen Mittelwerte von 69% (Spanne von 50 bis 82%, n=158).

Da bei begrenzter Energiezufuhr die mikrobielle Proteinsynthese nicht weiter gesteigert werden kann, nimmt mit steigender Zufuhr an Futterprotein der Anteil an ungebautem Futterprotein (UDP) zu. Entsprechend sinkt der Anteil an Mikrobenprotein am NAN und der Anteil an UDP am NAN erhöht sich. KIRKPATRICK & KENNELLY (1989) ermittelten sowohl bei steigenden Sojaextraktionsschrot-, als auch bei Rapsextraktionsschrotsupplementierungen einen signifikanten Anstieg des NAN-Flusses. Dabei nahm der Fluss an Mikrobenprotein bei gleichzeitiger Zunahme des UDP-Anteils tendenziell ( $p > 0,05$ ) ab. Auch GABLER & HEINRICHS (2003) führten Versuche mit Rationen durch, die ansteigende Rohproteingehalte (11,9; 16,7; 18,1 bzw. 20,1 % i. T) aufwiesen. Sie zeigten bei einem Anstieg der Stickstoff-Aufnahme und bei konstanter Energieversorgung einen Anstieg des mikrobiellen Stickstoffs (24,1 bis 38,1 g MN/ Tag). Bei Betrachtung des Anteils Mikrobenstickstoffs am gesamt aufgenommenen Stickstoff konnte jedoch festgestellt werden, dass bei den mit Stickstoff am geringsten versorgten Tieren (11,9 % XP i. T) der höchste Anteil des Stickstoffs zu Mikrobenstickstoff umgesetzt wurde (39 %). Dagegen zeigten die anderen Gruppen nur einen Anteil von 29 bis 36 %. In der Gruppe mit 16,7 % XP i. T wurde der niedrigste Anteil (29 %) gefunden. Allerdings muss dabei berücksichtigt werden, dass in diesen Versuchen die Zusammensetzung der Rationen sehr unterschiedlich waren.

Die signifikant niedrigere Menge an fermentierter organischer Substanz (s. 4.6.4., Tabelle 16) bei einer ruminalen Stickstoffbilanz von -0.6 g/MJ ME gegenüber einer ausgeglichenen RNB (0 g/MJ ME) weist auf eine geringere Fermentationsleistung der Pansenmikroorganismen hin. Die Korrelation zwischen der auf Grundlage der analysierten Futtermittel berechneten RNB („analyzierte“ RNB) und der Menge an täglich fermentierter organischer Masse (kg FOM/Tag) war allerdings sehr gering ( $r^2 = 0,14$ ). Der im vorliegenden Versuch, bezogen auf die aufgenommene Menge an organischer Substanz (FOM in % der OM-Aufnahme), fermentiertem Anteil an organischer Substanz lag bei 66 bis 70%. Die höchsten Werte konnten bei ausgeglichener

ruminaler Stickstoffbilanz ( $70 \pm 2\%$ ) und positiver RNB ( $68 \pm 3\%$ ) ermittelt werden. Allerdings wurde bei gleicher Kraffuttermischung und einer steigenden Harnstoffzulage in den Kraffuttermischungen weniger organische Masse zugeführt. Dies ist ebenfalls als ein Faktor für die niedrigere Menge an FOM in der Versorgungsstufe  $-0.6$  g RNB/MJ ME ohne Harnstoffzulage zu beachten.

Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese stellt die Menge an mikrobiellem Protein je kg fermentierter organischer Substanz (g MP/kg FOM) dar. Es zeigte sich auch in der vorliegenden Arbeit (s. 4.6.4., Tabelle 16), dass die zur Verfügung stehende fermentierte organische Substanz unabhängig von der ruminalen Stickstoffbilanz in gleichem Umfang für die mikrobielle Proteinsynthese genutzt wurde (zwischen ca. 143,4 bis 153,0 g MP/kg FOM). Dies weist darauf hin, dass die mikrobielle Proteinsynthese bei negativer ruminaler Stickstoffbilanz abnahm, da vermutlich von der etwas mehr vorliegenden organischen Masse weniger fermentiert wurde und weniger die Folge einer geringeren Effizienz war. Trotzdem zeigte sich die tendenziell höchste Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese bei ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME). Dagegen sank die Effizienz bei einer Überversorgung mit ruminal verfügbarem Stickstoff ( $+0.3$  g/MJ ME) bereits wieder ab. Diese Gruppe erhielt durch die höchste Harnstoffzulage die geringste Menge an organischer Substanz, so dass der Anteil an fermentierter organischer Substanz und folglich die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese höher zu erwarten gewesen wäre. Allerdings konnte in dieser Versorgungsstufe der NEL-Bedarf der Tiere im Mittel nur zu 91% gedeckt werden. Eine sichere Abgrenzung der verschiedenen Einflussfaktoren und ihre Beurteilung sind daher schwierig.

Lediglich die Versorgungsstufe mit einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz lag mit einer Effizienz von 153,0 g MP/kg FOM innerhalb der Standardabweichung des von LEBZIEN & VOIGT (1999) angegebenen Mittelwertes von  $181,1 \pm 28,7$  g MP/kg FOM. Dagegen kommen die Werte für die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese aller vier Behandlungen den im PDI-System (INRA 1989) sowie im DVE (CVB 1991 und TAMMINGA et al. 1994) angegebenen Mittelwerten (145 g MP/kg FOM bzw. 150 g MP/kg FOM) sehr nahe.

Nach Auswertungen von ROHR et al. (1988) hat die Höhe der Trockensubstanzaufnahme, des Krafftutteranteils sowie der Gehalt an Rohprotein Einfluss auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese. Ein Anstieg der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese zeigte sich jedoch nur bis zu einem Rohproteingehalt von maximal 15 % XP i. T. Bei einem Rohproteingehalt von über 15 % i. T. wieder ab. Dies zeigt, dass ein Übermaß an Protein die mikrobielle Proteinsynthese und in letzter Konsequenz die Effizienz senken kann. In der vorliegenden Arbeit wurde in der Behandlung +0.3 g RNB/MJ ME ein Rohproteingehalt von 15,8 % i. T. erreicht. Auch hier zeigte sich ein tendenzieller Abfall der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese gegenüber einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz.

Eine signifikante Abnahme der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese mit steigender Menge an fermentierter organischer Masse (FOM), wie von ZINN et al. (1981) beschrieben, konnte im vorliegenden Versuch nicht beobachtet werden. Allerdings wurde die Menge an FOM in ihren Versuchen bis auf das 3,7-fache gesteigert und im vorliegenden Versuch lediglich bis auf das 1,1-fache.

Die am proximalen Duodenum ermittelte Rohproteinmenge stellt die Summe aus dem nutzbarem Rohprotein und dem endogenen Protein dar. Ein Vergleich der mit Hilfe der DLG-Futterwerttabellen (1997) kalkulierten nXP-Werte (s. Tabelle 11) mit den aus den Chymusflussmengen berechneten nXP-Mengen (s. Tabelle 16) zeigte eine um 519 g (RNB -0.6); 393 g (RNB -0.3); 136 g (RNB 0) und 304 g (RNB +0.3) niedrigere Menge als zuvor geschätzt. Somit wurde die nXP-Menge bei ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz (0 g RNB/MJ ME) anhand der DLG-Futterwerttabellen (1997) am besten und bei der am wenigsten ausgeglichenen RNB (-0.6 g/MJ ME) am schlechtesten geschätzt. Die Überschätzung insbesondere bei der RNB -0.6 g/MJ ME kann auf der verminderten mikrobiellen Proteinsynthese u.a. aufgrund einer geringeren Verfügbarkeit der Energie im Pansen beruhen (LEBZIEN et al. 1983).

Durch den bei der höchsten Unterversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff (RNB = -0.6 g/MJ ME) gegenüber der Planung stark reduzierten nXP-Fluss betrug die „tatsächliche“, anhand der gemessenen nXP-Flüsse am Darm bestimmte, ruminale Stickstoffbilanz nur -0.16 g/MJ ME (-0,63 g/MJ ME waren geschätzt worden).

Der bei Überversorgung ebenfalls tendenziell reduzierte nXP-Fluss führte ebenfalls zu einem Anstieg der „tatsächlichen“ RNB gegenüber der Planung (0,41 gegenüber 0,1 g/MJ ME). Somit kam es bei ausgeglichener Versorgung (RNB = 0 g/MJ ME) neben der geringsten Überschätzung der Menge an nutzbarem Rohprotein am Darm auch zu der genauesten Vorhersage der ruminalen Stickstoffbilanz (s. 4.6.5., Tabelle 17).

## **5.6. Blut- und Milchwarnstoff**

Ammoniak, der im Pansen nicht für die mikrobielle Proteinsynthese genutzt wird, geht nur zu einem kleinen Anteil in den Dünndarm über. Der überwiegende Teil diffundiert durch die Pansenwand in das Blut und wird in der Leber zu Harnstoff umgewandelt. Dieser kann über Speichel und durch die Pansenwand zurück in den Pansen gelangen. Dort wird er durch die, von ureolytischen Bakterien gebildete, Urease wieder in Ammoniak umgewandelt und steht für die mikrobielle Proteinsynthese zur Verfügung (s. 2.3.2., Abb. 3). Das Gleichgewicht zwischen Blutharnstoff und Pansen-NH<sub>3</sub>-N wird maßgeblich durch die ruminale Ammoniak-N-Konzentration bestimmt (BUNTING et al. 1987, 1989a und b). Nicht in den Pansen rezirkulierter und für die mikrobielle Proteinsynthese genutzter Stickstoff wird über den Urin (s. 4.7.2. und 5.6.) und bei laktierenden Kühen auch über die Milch in Form von Harnstoff ausgeschieden.

Die Tabelle 19 gibt Zusammenhänge dieser Größen anhand von Regressionsgleichungen wieder, die zum einen auf Grundlage der in dem vorliegenden Versuch ermittelten Werte erstellt oder aus Literaturangaben abgeleitet wurden.

Tabelle 19: Beziehungen zwischen der RNB (g/MJ ME), der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration (r.NH<sub>3</sub>-N, mmol/l), dem Blut-N- (BUN, mmol/l) und Milchwahnstoff-N-Gehalt (MUN, mmol/l)

Gleichung	R <sup>2</sup>	Quelle
BUN = 0,31 *r.NH <sub>3</sub> -N+1,94	0,73	Eigene Werte
MUN = 0,21 *r.NH <sub>3</sub> -N +1,41	0,81	Eigene Werte
MUN = 0,16 *r.NH <sub>3</sub> -N + 2,14	0,55	ROPSTAD 1989
MUN = 1,46 *r.NH <sub>3</sub> -N -6,71	0,57	Nach* BRODERICK 1997
MUN = 5,26 *RNB + 4,51	0,75	Eigene Werte
MUN = 0,12 *RNB +16,7	0,84	STEINWIDDER 1998
BUN = 9,08 *RNB + 6,84	0,92	Eigene Werte
MUN = 0,70 *BUN - 0,03	0,83	Eigene Werte
MUN = 0,88 *BUN -0,95	0,79	Nach* ROSELER 1993
MUN = 0,62 *BUN + 3,40	0,84	Nach* BRODERICK 1997

(\*für eine einheitliche Darstellung aus der Literatur umgewandelte Gleichungen)

Die Zusammenhang zwischen der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration und dem Milchwahnstoff-N-Gehalt war sowohl anhand der eigenen Werte als auch anhand der Literaturangaben weniger eng, vermutlich da die NH<sub>3</sub>-N-Konzentration eine momentan erfasste Konzentration und der Milchwahnstoffgehalt aus einer über den Tag erfassten Sammelprobe bestimmt wird. Deutlich wird die geringere Abhängigkeit der beiden Größen voneinander durch die sehr unterschiedlichen R<sup>2</sup>-Werten von 0,55 bis 0,81 sowie die z.T. sehr hohen Absolutgliedern.

STEINWIDDER et al. (1998) fanden eine deutlich niedrigere Abhängigkeit zwischen der ruminalen Stickstoffbilanz und dem Milchwahnstoffgehalt als in den eigenen Versuchen (0,12 gegenüber 5,26).

In der Abbildung 14 sind die Blut- und Milchwahnstoffgehalte in Abhängigkeit von der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration dargestellt. Bei steigender ruminaler Ammoniak-N-Konzentration erhöhten sich sowohl der Blut-, als auch der Milchwahnstoffgehalt. Es zeigte sich, dass die Blutharnstoffkonzentration über dem Milchwahnstoffgehalt

halt lag und bei steigender ruminaler  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration stärker anstieg als dieser. Auch KAUFMANN et al. (1982) wiesen anhand ihrer Untersuchungsergebnisse daraufhin, dass der Blutharnstoffgehalt stärker auf schwankende  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentrationen im Pansen reagierte als der Gehalt an Harnstoff in der Milch. Somit spiegelte der Milchwahstoff weitestgehend den mittleren Blutharnstoffgehalt während des Tages wider. Wie hoch die Unterschiede zwischen diesen beiden Größen sind, hängt nach GUSTAFSSON & PALMQUIST (1993) möglicherweise auch vom Entnahmeort und -zeitpunkt der Blutprobe ab.

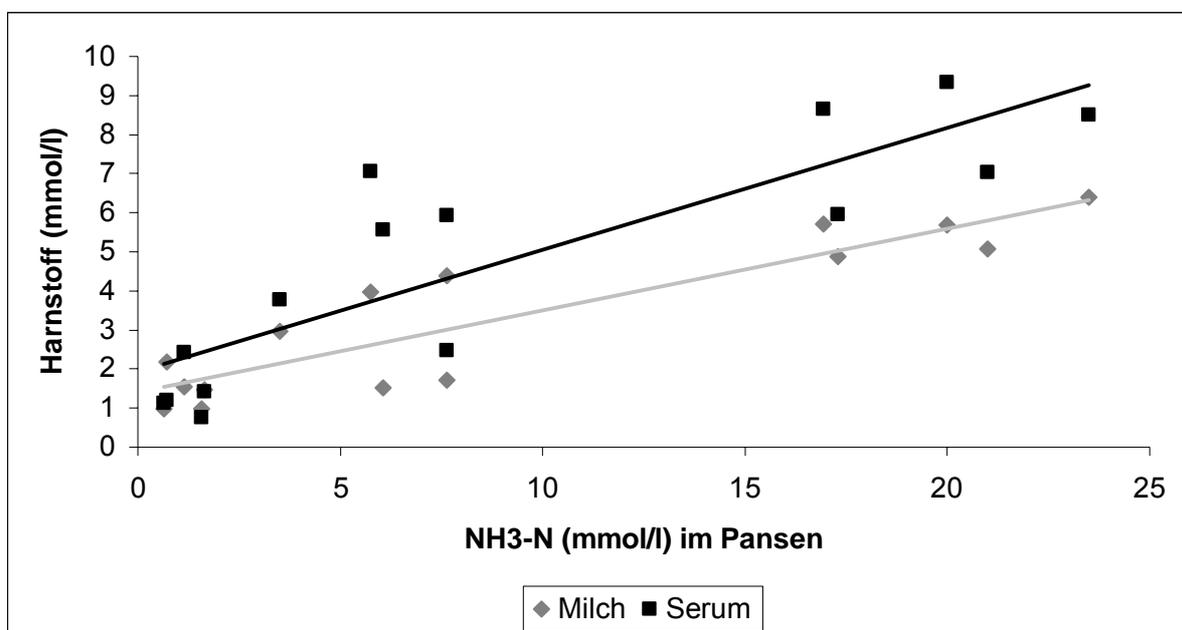


Abbildung 14: Milch- und Blutharnstoffgehalte in Abhängigkeit von der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration

Sie gaben in ihren Arbeiten zum tageszeitlichen Verlauf verschiedener Parameter (z.B. Pansenammoniak und Blutharnstoff) an, dass der Höchstgehalt an Harnstoff im Blut 1,5 bis 2 Stunden nach dem Pansenammoniakpeak zu erwarten ist. In der vorliegenden Arbeit wurden die Blutproben ca. 4,5 Stunden nach Fütterungsbeginn genommen, so dass bei einem Ammoniakpeak in der Pansenflüssigkeit ca. 1,5 Stun-

den nach Fütterungsbeginn der höchste Harnstoffgehalt im Blut 1,5 Stunden vor der Blutentnahme zu erwarten war.

Aufgrund der engen Korrelation zwischen der Ammoniak-N-Konzentration im Pansen (r.  $\text{NH}_3\text{-N}$ ) und dem Harnstoff-N-Gehalt im Blut (BUN) konnte eine Gleichung (s. Tabelle 19) erstellt werden.

Wie erwähnt erhöhte sich mit steigender ruminaler  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration auch der Milchwarnstoff-N-Gehalt (MUN). Beide Größen sind mit einem relativ hohen Bestimmtheitsmaß ( $r^2=0,81$ ) miteinander verbunden (s. Tabelle 19). Ein Zusammenhang zwischen der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration und dem Milchwarnstoffgehalt konnte auch von ROPSTAD et al. (1989) durch eine Gleichung (s. Tabelle 19) beschrieben werden. Auch BRODERICK & CLAYTON (1997) fanden bei ihren Auswertungen der Ergebnisse von 482 Milchkühen bei 106 Fütterungen einen engen Zusammenhang zwischen dem Milchwarnstoffgehalt und der ruminalen Ammoniak-N-Konzentration. Das negative Absolutglied in ihrer Gleichung (s. Tabelle 19) führt jedoch dazu, dass sich für  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt  $<4,6$  mmol/l unlogischerweise negative MUN-Gehalte errechnen würden. Die zum Teil beträchtlichen Unterschiede zwischen den Regressionen (s. Tabelle 19) dürften zu einem Großteil darin begründet sein, dass die ermittelten  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalte im Pansen nicht unbedingt immer repräsentativ für den im Tagesverlauf mittleren Gehalt sind und dass der Gehalt an Milchwarnstoff-N auch von einer Reihe anderer Faktoren abhängig ist (s. 2.4., Tabelle 3).

In Versuchen von KAUFMANN et al. (1982) schlugen sich verringerte  $\text{NH}_3$  Überschüsse beim Einsatz geschützter Proteine ebenfalls in deutlich geringeren Harnstoffgehalten in der Milch nieder. In Übereinstimmung mit dieser Aussage fanden auch FAVERDIN et al. (2003) einen höheren Milchwarnstoffgehalt bei höherer Ammoniak-N-Konzentration im Pansen.

Durch die Abhängigkeit der Harnstoffgehalte im Blut und in der Milch von der ruminalen  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration sowie auf der anderen Seite den Zusammenhang zwischen der ruminalen  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration und der RNB lassen sich die Beziehungen zur ruminalen Stickstoffbilanz (s. Abb. 15) erklären.

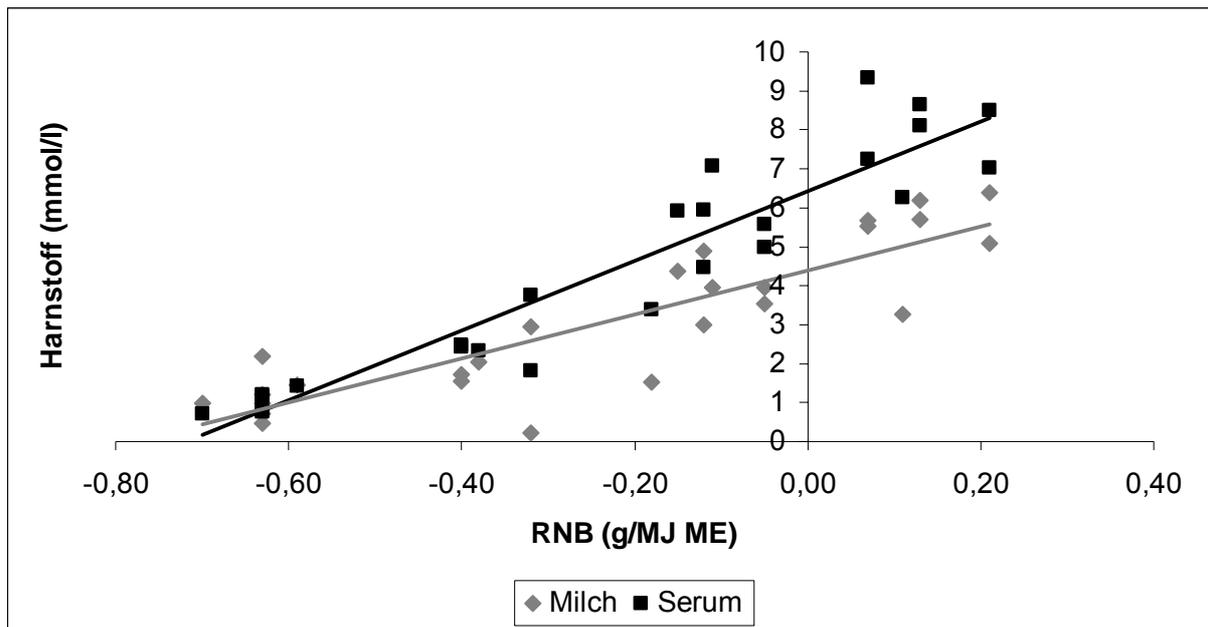


Abbildung 15: Harnstoffgehalte in der Milch und im Blutserum in Abhängigkeit von der „analysierten“ ruminalen Stickstoffbilanz

Bei höherer Versorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff stiegen die Harnstoffgehalte im Blutserum und in der Milch an. Mit Hilfe der ruminalen Stickstoffbilanz kann der Blutharnstoffgehalt sowie der Milchwarnstoffgehalt geschätzt werden (s. Tabelle 19). Soweit Analysenwerte für die Futtermittel vorhanden sind, sollte zur Schätzung die „analysierte“ RNB herangezogen werden. Ist dies nicht möglich steht in die „geplante“ RNB zur Verfügung, da die notwendigen Größen für die „geflossene“ RNB in der Regel nicht vorhanden sind (s. 4.6.5., s. Tabelle 16).

RUIZ et al. (2001) stellte bei einer 92,3; 108,2 und 132,3 %-igen Realisierung der vom CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System) empfohlenen ruminalen N-Bilanz einen signifikanten Anstieg des Blutharnstoffgehaltes fest (1,7; 3,2 und 8,3 mmol/l). Aus der wenig informativen Darstellung ihrer Versuche konnte jedoch die Rationsgestaltung und die entsprechende Ableitung der Bedarfsdeckung der ruminalen Stickstoffbilanz nicht nachvollzogen werden. Ausgehend von Angaben des NRC (2001), wonach ein Blutharnstoffgehalt unter 5 mmol/l ein Zeichen für ein Proteindefizit ist, stehen die postulierte 108,2% der RNB-Empfehlungen (nach CNCPS) im

Widerspruch zu dem Blutharnstoffgehalt von 3,2 mmol/l. Der aus dem angegebenen Blutharnstoff-N-Gehalt eher zu vermutende N-Mangel anstatt der 108,2% wird durch die reduzierte Trockenmasseaufnahme in dieser Gruppe noch unterstrichen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Wert von 5 mmol/l im Mittel der Behandlungen - 0.6 und -0.3 g RNB/MJ ME nicht erreicht. Erst bei einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME) lag der mittlere tägliche Blutharnstoffgehalt mit  $5,3 \pm 1,3$  mmol/l über diesem Wert und deutet auf eine ausreichende Versorgung mit Stickstoff hin. Bei Betrachtung der Blutharnstoffgehalte der Einzeltiere (s. Abb. 15) ergab sich bei einer „analysierten“ ruminalen Stickstoffbilanz unter -0,1 g/MJ ME nur für ein Tier und erst bei einer RNB  $< -0,2$  g/MJ ME regelmäßig Werte unter 5 mmol/l. CHRISTENSEN et al. (1993) führten Untersuchungen mit vier Rationen durch, in denen niedrige und hohe Rohproteingehalte jeweils mit niedrigem und hohem Anteil an ruminal nicht abbaubarem Protein kombiniert wurden. Sie fanden eine Reduzierung des Blutharnstoffgehaltes sowohl beim Absinken des Rohproteingehaltes als auch beim Anstieg des ruminal unabbaubaren Proteins.

Ein Zusammenhang zwischen dem im Pansen freiwerdenden Stickstoff und dem Harnstoffgehalt im Blut konnte jedoch nicht in allen Arbeiten belegt werden. So fanden RODRIGUEZ et al. (1997) bei einem steigenden Anteil ruminal unabbaubaren Proteins (41% gegenüber 29%) trotz einer niedrigeren Ammoniak-N-Konzentration im Pansen einen höheren Blutharnstoffgehalt (11,5 gegenüber 10,4 mmol/l). Sie gaben als Erklärung an, dass durch ein Fehlen an Propionat vermehrt Aminosäuren für die Glukoneogenese in der Leber herangezogen wurden. Dies führte zu einer zusätzlichen Freisetzung von Stickstoff aus dem Proteinabbau, der in der Leber zu Harnstoff umgewandelt wurde.

In Untersuchungen von MONTEILS et al. (2002) mit Milchkühen führte ein Anstieg des Rohproteingehaltes in der Ration (13, 14,4 und 16 % XP i. T) zu einem hochsignifikanten ( $p < 0,01$ ) Anstieg der Plasmaharnstoff-Konzentration (4,0; 4,7 bis 5,9 mmol/l). Auch HOFFMANN et al. (2001) untersuchten den Einfluss unterschiedlicher Rohproteingehalte (8, 11, 13 und 15% XP i. T) auf den Harnstoffgehalt im Serum von Färsen. Es zeigte sich bei steigendem Rohproteingehalt ein linearer Anstieg des Serumharnstoffgehaltes (0,3 bis 8,9 mmol/l). Dies konnten ebenfalls GABLER &

HEINRICHS (2003) in ihren Arbeiten mit Färsen beobachten. Bei Rohproteingehalten, die etwa denen bei HOFFMANN et al. (2001) entsprachen, erhielten sie jedoch deutlich höhere Blutharnstoffwerte (7,2 bis 11,9 mmol/l). Dies bestätigt, dass der Blutharnstoffgehalt nicht nur vom Rohproteingehalt in der Ration, sondern auch von der Abbaubarkeit des Proteins im Pansen und der Deckung des N-Bedarfes der Mikroben abhängt.

Im vorliegenden Versuch wurde Harnstoff zur Steigerung des Stickstoffeintrages verwendet. Harnstoff zeigt im Gegensatz zu praxisüblicheren Stickstoffquellen eine andere Kinetik. Er wird auf der einen Seite schnell freigesetzt und führt zu den beschriebenen Anstiegen im Pansensaft, Milch und Blut. Auf der anderen Seite erfolgt auch ein sehr schneller Abbau des Harnstoffs. Auch durch die viermalige Krafftuttervorlage in einem Bereich von ca. 12 Stunden konnten keine mit anderen Stickstoffquellen (wie z.B. Soja) vergleichbaren Verhältnisse erreicht werden, so dass die zu einem bestimmten Zeitpunkt ermittelten Harnstoffgehalte im Blutserum schwierig mit anderen Arbeiten zu vergleichen waren.

Der Blutharnstoffgehalt in der vorliegenden Arbeit lag bei dem höchsten XP-Gehalt in der Ration (15,8% XP i. T) mit 7,9 mmol/l  $\pm$ 1,3 deutlich über dem von BRODERICK (2003) ermittelten Wert von 1,5 mmol/l bei einem Rohproteingehalt von 15,1% i. T. Dies könnte durch eine unterschiedlich hohe N-Freisetzung im Pansen erklärt werden. Angaben über die Abbaubarkeit des Futterproteins sind in der Arbeit von BRODERICK (2003) allerdings nicht gemacht worden.

KAUFFMANN & ST PIERRE (1999 und 2001) fanden unabhängig der anderen genannten Einflussfaktoren in zwei zeitlich versetzten Untersuchungen einen steigenden Milchharnstoffgehalt von 1,1 bzw. 1,0 mmol/l auf 2,1 mmol/l bei einem Anstieg des XP-Gehaltes von 14 bzw. 13 auf 18 bzw. 17%. Auch Untersuchungen von BRODERICK (2003) zeigten bei steigenden Rohproteingehalten (15,1; 16,7 und 18,4%) einen signifikanten Anstieg des Milchharnstoffgehaltes (1,5; 2,1 und 2,7 mmol/l).

MOORBY & THEOBALD (1999) untersuchten den Einfluss einer duodenalen Ammoniakinfusion auf die Milchproduktion und die N-Bilanz von Milchkühen. Sie stellten dabei u.a. fest, dass eine Ammoniakinfusion direkt in das Duodenum nicht zu einer

Veränderung des Harnstoffgehaltes in der Milch führte. Dies unterstreicht die Annahme, dass insbesondere die N-Menge, die im Pansen freigesetzt wird, eine Änderung des Milchharnstoffgehaltes bewirkt, weniger die im Darm zu findende  $\text{NH}_3$ -Menge.

In ihren Versuchen zum Einfluss einer negativen ruminalen Stickstoffbilanz auf die Milchleistung und Milchhaltsstoffe fanden KRIETE et al. (2004) in der Gruppe mit einer negativen RNB (-0,65 g/MJ ME) einen mittleren Milchharnstoffgehalt von 1,93 mmol/l und in der überversorgten Gruppe (RNB +0,18 g/MJ ME) von 4,85 mmol/l. Bei höherer Tierzahl (15 Tiere je Futtergruppe) und ausgeglichenerem Tiermaterial in den Gruppen entsprachen die Milchharnstoffwerte somit annähernd den in der vorliegenden Arbeit gefundenen mittleren Werten (bei RNB -0.6: 1,1 mmol/l gegenüber 5,4 mmol/l bei RNB +0.3 mmol/l) (s. Abb. 15 und Anhang). STEINWIDDER et al. (1998) fanden in Übereinstimmung mit VERITÉ et al. (1996), HOF et al. (1997) sowie SCHEPERS & MEIJER (1998) einen engen Zusammenhang zwischen der ruminalen Stickstoffbilanz und dem Milchharnstoffgehalt (s. Tabelle 19). Aus der von ihnen aufgestellten Gleichung lässt sich für eine negative ruminale Stickstoffbilanz von -94 g/Tag noch ein Milchharnstoffgehalt von 5 mmol/l errechnen. Ein solcher Milchharnstoffgehalt ergibt sich in den vorliegenden Versuchen etwa bei ausgeglichener RNB. Auch Auswertungen von HOJMAN et al. (2004) zeigten einen positiven Zusammenhang zwischen dem Milchharnstoffgehalt und dem ruminal verfügbaren Stickstoff. Dagegen konnten KLUTH et al. (2003) bei gleicher Energieversorgung der Tiere keinen signifikanten Anstieg des Milchharnstoffgehaltes bei steigender ruminaler Stickstoffbilanz belegen. Allerdings wies die Ration mit einer positiven RNB den tendenziell ( $p > 0,05$ ) höchsten Milchharnstoffgehalt auf. Dabei muss aber berücksichtigt werden, dass die Unterschiede der RNB-Versorgung (6 gegenüber 39 g/Tag) geringer als ursprünglich kalkuliert (kalkulierte Differenz 51 g/Tag) ausfielen.

Untersuchungen von OLTNER & WIKTORSSON (1983) und auch später von STEINWIDDER et al. (1998) führten bei gleicher ruminaler Stickstoffbilanz, aber differenzierter Energieversorgung der Tiere, zu keiner Variation im Milchharnstoffgehalt. Bei ausschließlicher Änderung der Energieversorgung wäre in Anlehnung an KIRCHGESSNER et al. (1986) und KIRCHGESSNER & WINDISCH (1989) eine Än-

derung des Harnstoffgehaltes zu erwarten gewesen. Sie schlussfolgerten daraus, dass der Milchharnstoff weniger ein direkter Parameter zur Überprüfung der Versorgung des Wirtstieres mit Protein und Energie darstellt (OLTNER & WIKTORSSON 1983 und KIRCHGESSNER & WINDISCH 1989), als vielmehr einen Indikator für die N-Versorgung der Pansenmikroorganismen.

Nach den Empfehlungen der GfE (2001) sollte der Milchharnstoffgehalt in einem Bereich zwischen 150 und 300 mg/kg Milch (entsprechend 2,5 und 5,0 mmol/l) liegen, wobei eine ruminale Stickstoffbilanz von bis zu 50 g/Tag als tolerierbar angenommen wird. Bei Werten außerhalb dieses Bereiches sollten die Rationen geändert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Milchharnstoffgehalt von 150 mg/kg (2,5 mmol/l) bei Unterversorgung mit ruminal verfügbarem Stickstoff (RNB -0.6 g/MJ ME bzw. -100 g/Tag und -0.3 g/MJ ME bzw. -51 g/Tag) nicht erreicht (69 bzw. 102 mg/kg Milch, entspricht 1,1 bzw. 1,7 mmol/l). Dagegen lag bei einer Überversorgung (RNB +0.3 g/MJ ME bzw. 52 g/Tag) der Milchharnstoffgehalt mit 325 mg/kg Milch (bzw. 5,4 mmol/l) bereits oberhalb des angegebenen Höchstwertes. Lediglich die Futtergruppe mit einer ausgeglichenen ruminale Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME bzw. -1 g/Tag) zeigte einen Milchharnstoffgehalt innerhalb des von der GfE (2001) angegebenen Normalbereiches (217 mg/kg Milch bzw. 3,6 mmol/l) (s. Anhang 11). Wie bereits beschrieben weist der in dem Versuch verwendete Harnstoff eine andere Kinetik als praxisübliche Stickstoffquellen auf, so dass die Übertragung der ermittelten Milchharnstoffgehalte und ihre Folgen vorsichtig zu bewerten sind.

In Abbildung 16 ist der Zusammenhang zwischen Blut-(BUN) und Milchharnstoff (MUN) dargestellt. Es zeigte sich eine enge Korrelation zwischen beiden Größen. ( $MUN \text{ (mmol/l)} = 0,70 * BUN \text{ (mmol/l)} - 0,03; r^2=0,83$ ).

Ebenso fanden ROSELER et al. (1993) in ihren Untersuchungen zum Einfluss des Verhältnisses zwischen ruminal abbaubarem und unabbaubarem Protein auf den Blut- und Milchharnstoffgehalt eine enge Korrelation zwischen dem Harnstoffgehalt im Blut und in der Milch (s. Tabelle 19). In Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen stiegen die Blutharnstoffgehalte stärker an als der Milchharnstoffgehalt.

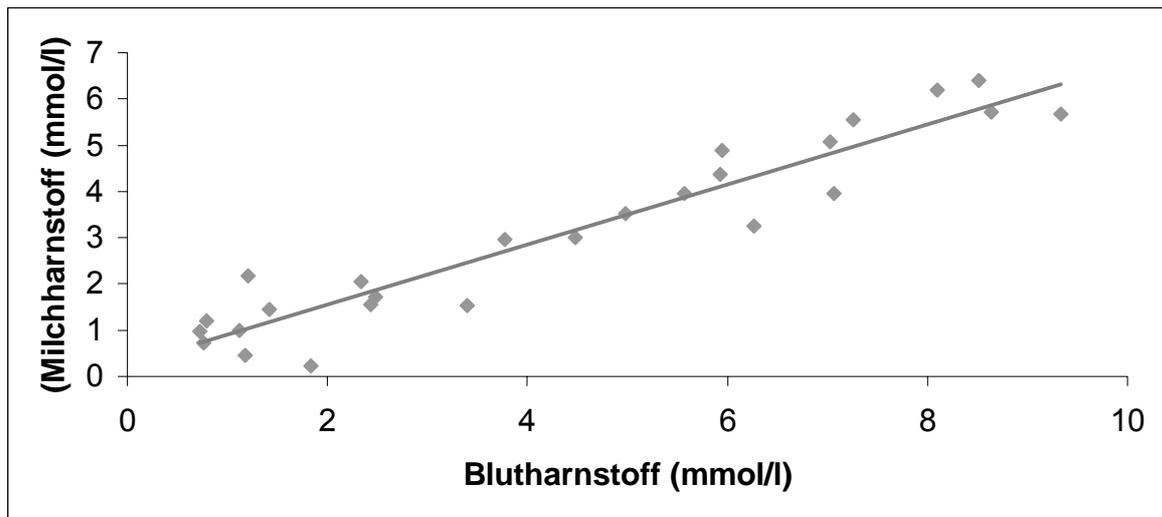


Abbildung 16: Verhältnis zwischen den Harnstoffgehalten im Blutserum (BUN) und in der Milch (MUN) (n=26) ( $MUN \text{ (mmol/l)} = 0,70 \cdot BUN \text{ (mmol/l)} - 0,03$ ;  $r^2=0,83$ )

BRODERICK & CLAYTON (1997) fanden unterschiedlich enge Korrelationen zwischen dem Blutharnstoffgehalt und dem Harnstoffgehalt im Morgen- bzw. Abendmelk. Es zeigte sich, dass die am Morgen genommenen Milchproben enger mit dem Blutharnstoffgehalt korreliert waren ( $r=0,83$ ) als die am Abend  $r=0,73$ ). Die höchste Korrelation mit dem Blutharnstoff zeigte der Tagesmittelwert für den Milchwahnstoffgehalt ( $r=0,86$ ). Sie erstellten aus allen Werten eine Regressionsgleichung zur Schätzung des Milchwahnstoff-N-Gehaltes mit Hilfe des Blutharnstoff-N-Gehaltes. Ausgehend von der Empfehlung des NRC (2001), einen Blutharnstoffgehalt von 5 mmol/l nicht zu unterschreiten, errechneten sich aus den Gleichungen für die Beziehung zwischen MUN und BUN der vorliegenden Arbeit, der Arbeit von ROSELER et al. (1993) und den Untersuchungen von BRODERICK & CLAYTON (1997) Milchwahnstoffgehalte von mindestens 3,5; 3,5 und 6,5 mmol/l. Das entspricht Werten zwischen 210 und 390 mg Harnstoff /kg Milch, was nur unwesentlich von der Empfehlung der GfE (2001?) von 150 bis 300 mg /kg Milch abweicht.

## 5.7. Harn- und Kot-Stickstoff-Ausscheidung

Der im Pansen nicht benötigte und in das Blut abgegebene Stickstoff, in Form von Harnstoff, wird neben der Milch insbesondere über den Harn ausgeschieden. Dagegen wird der Stickstoff, der vor allem in Form von mikrobiellem und Futterprotein, Peptiden und Aminosäuren und in geringem Maße in Form von Ammoniak den Dünndarm erreicht und dort teilweise nicht verdaut und absorbiert wird, über den Kot ausgeschieden. In der vorliegenden Arbeit (s. 4.7.2., Abb. 9) zeigte sich bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz eine annähernd gleich bleibende Kot-N-Menge (zwischen 90 und 110 g/Tag). Diese wurde aber auf Grundlage einer angenommenen konstanten N-Verdaulichkeit im Darm berechnet, weshalb die individuellen Unterschiede auch relativ gering sind. Dagegen zeigte sich bei steigender ruminaler Stickstoffbilanz eine höhere Stickstoffausscheidung mit dem Harn (von 67 auf 262 g N/Tag). Die N-Ausscheidung über den Harn reagierte somit deutlich sensitiver auf Unterschiede in der Versorgung mit Stickstoff als die Ausscheidung mit dem Kot. Auch HOLTHAUSEN et al. (2000) fanden bei ihren Untersuchungen zum Einfluss einer negativen ruminalen Stickstoffbilanz (0 bzw. -5 g N/kg T) auf die N-Bilanz bei vier Milchkühen eine annähernd unveränderte Kot-N-Ausscheidung von 144 bzw. 149 g/Tag. Dagegen reduzierte sich die Stickstoffmenge, die mit dem Harn ausgeschieden wurde, von 191 auf 103 g/Tag.

In einer Vielzahl von Arbeiten konnte festgestellt werden, dass bei Erhöhung der N-Zufuhr, die Kot-N-Menge annähernd gleich blieb, aber die N-Ausscheidung mit dem Harn deutlich anstieg (SUSMEL et al. 1995; PUTNAM & VARGA 1998 und MOORBY & THEOBALD 1999). In diesen Untersuchungen wurde bei gleichbleibender Ration und somit gleicher Energieversorgung lediglich die N-Aufnahme variiert. Dagegen wurde in anderen Arbeiten festgestellt, dass sowohl die Kot-N- als auch die Harn-N-Menge bei höherer N-Zufuhr anstiegen (KAUFFMANN & ST PIERRE 1999; MONTEILS et al. 2002 und BRODERICK 2003). Dabei ist aber entscheidend, dass in den zuletzt genannten Arbeiten nicht nur die Menge an pansenverfügbarem Stickstoff, bei ansonsten gleicher Ration, erhöht wurde. Bei MONTEILS et al. (2002) variierten ebenfalls die Gehalte zwischen verschiedenen Proteinquellen bei gleichzeitig

geänderten Anteilen der Grundfutterkomponenten. Ebenso kann bei KAUFFMANN & ST PIERRE (1999) und BRODERICK (2003) nicht sicher davon ausgegangen werden, dass der Einfluss der unterschiedlichen NDF-Gehalte von dem Einfluss des steigenden XP-Gehaltes auf die Kot- und Harn-N-Ausscheidung getrennt werden konnte.

Die Kot-N-Ausscheidung wird auch durch die Menge an im Dickdarm synthetisiertem Mikrobenprotein beeinflusst. Insgesamt wirken sich diese Faktoren jedoch weniger auf die Kot-Stickstoffmenge, als die RNB auf die Menge an Harn-N aus. So zeigten sich bei Arbeiten von HOFFMANN et al. (2001) höhere Differenzen zwischen den Rationen bezüglich der ausgeschiedenen Menge an Harn-Stickstoff gegenüber dem Kot-N.

Da die Verdaulichkeit des Mikrobenproteins im Dünndarm relativ konstant ist (LEBZIEN & ROHR 1994), können Unterschiede bezüglich der N-Ausscheidung mit dem Kot prinzipiell nur auf größeren Unterschieden in der am Dünndarm ankommenden Menge an nXP, d.h. Mikrobenprotein und/oder unabgebautem Futterprotein (UDP) beruhen. Dies trifft insbesondere zu, wenn die Dünndarmverdaulichkeit des UDP stark von der Dünndarmverdaulichkeit des Mikrobenproteins abweicht. So fanden WRIGHT et al. (1998) bei steigenden Konzentration an ruminal unabbaubarem Protein (RUP 4,5; 14,9 und 29,1 % i. T) eine signifikante Erhöhung der Kot- und Harn-N-Ausscheidung (134 bis 178 g/Tag bzw. 70 bis 331 g/Tag).

Auswertungen mehrerer N-Bilanz-Versuche von KEBREAB et al. (2002) ergaben, dass neben der N-Aufnahme des Tieres die Energieversorgung einen entscheidenden Einfluss auf die N-Ausscheidungswege hatte. Es zeigte sich, dass bei steigender N-Aufnahme durch ungenügend zur Verfügung stehende Energie der höhere Stickstoffanteil nicht durch die Mikroben genutzt werden kann. Der überschüssige Stickstoff gelangt über die Pansenwand in das Blut und wird letztlich über den Harn ausgeschieden. Dagegen wird bei ausreichender Bereitstellung an Energie der vermehrte Stickstoff durch die Pansenmikroorganismen zu mikrobiellen Protein umgewandelt. Dieses gelangt in das Duodenum und wird im weiteren Verlauf zu einem Großteil verdaut und absorbiert. Der nicht absorbierte Stickstoff wird über den Kot ausgeschieden. In den von GABLER & HEINRICHS (2003) durchgeführten Untersuchun-

gen mit steigenden Rohproteingehalten bei konstanter Energieversorgung stieg die Harn-N-Ausscheidung bei annähernd gleichem Kot-Stickstoffgehalt signifikant an. In der Ration mit 18,1 % XP i. T, gegenüber 16,7 % XP i. T, kam es zu einem Anstieg der N-Aufnahme um 8,4 %. Dem steht aber eine um 17,4 % höhere N-Ausscheidung gegenüber. Dies kann durch eine ineffiziente Nutzung und entsprechend vermehrte Ausscheidung des Stickstoffs durch einen Energiemangel erklärt werden.

Die Harn-N-Ausscheidung steht in enger Beziehung zum Milchharnstoffgehalt. In der Abbildung 17 sind die zur Verfügung stehenden Daten der mittleren täglichen Harn-N-Ausscheidung in Beziehung zum Milchharnstoffgehalt dargestellt. Es zeigte sich eine tendenzielle Erhöhung der Stickstoffausscheidung mit dem Harn bei steigendem Milchharnstoffgehalt.

In Tabelle 20 sind Gleichungen aus der Literatur zusammengestellt, auf deren Grundlage die Urin-N-Ausscheidung mit Hilfe des Milchharnstoffgehaltes geschätzt werden kann. Einige Autoren bezogen zusätzliche Faktoren in die Schätzgleichungen mit ein.

Tabelle 20: Gleichungen zur Schätzung der Urin-N-Ausscheidung (UN, g/Tag) unter Berücksichtigung des Milchharnstoff-N-Gehaltes (MUN, mg/dl), Körpergewichtes (KG, kg), der N-Aufnahme (kg/Tag) oder des Blutharnstoff-N-Gehaltes (BUN, mg/dl)

Gleichung	R <sup>2</sup>	Quelle
UN = 12,54 *MUN		JONKER 1998
UN = 11,6 *MUN + 88,8	0,73	BRODERICK 2003
UN = 0,0259 *KG *MUN	0,98	KAUFFMAN 2001
UN = 9,3 *MUN + 62,8	0,71	CISZUK 1994
UN = 0,54 *N-Aufn. -25,5	0,70	CISZUK 1994
UN = 10,2 *BUN + 27,2	0,67	CISZUK 1994

In der Abbildung 17 wurden die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Milchwahnstoffwerte, aufgrund der Gleichungen einheitlich in mg/dl angeben, in die Schätzgleichungen aus der Literatur (s. Tabelle 20) eingesetzt. Die so errechneten Werte wurden den tatsächlich bestimmten Harn-N-Ausscheidungen gegenüber gestellt. Bei Anwendung der aus der Literatur entnommenen Gleichungen wäre es insbesondere bei zwei Tieren mit hohem Milchwahnstoff-N-Gehalt (5,5 und 5,7 mg/dl) zu einer Überschätzung der Urin-Stickstoffausscheidung gekommen. Dies verbesserte sich auch nicht, wenn anstelle des Milchwahnstoff-N-Gehaltes, die nach CISZUK (1994) ebenfalls infrage kommende N-Aufnahme oder der Blutharnstoff-N-Gehalt (BUN) herangezogen wurde.

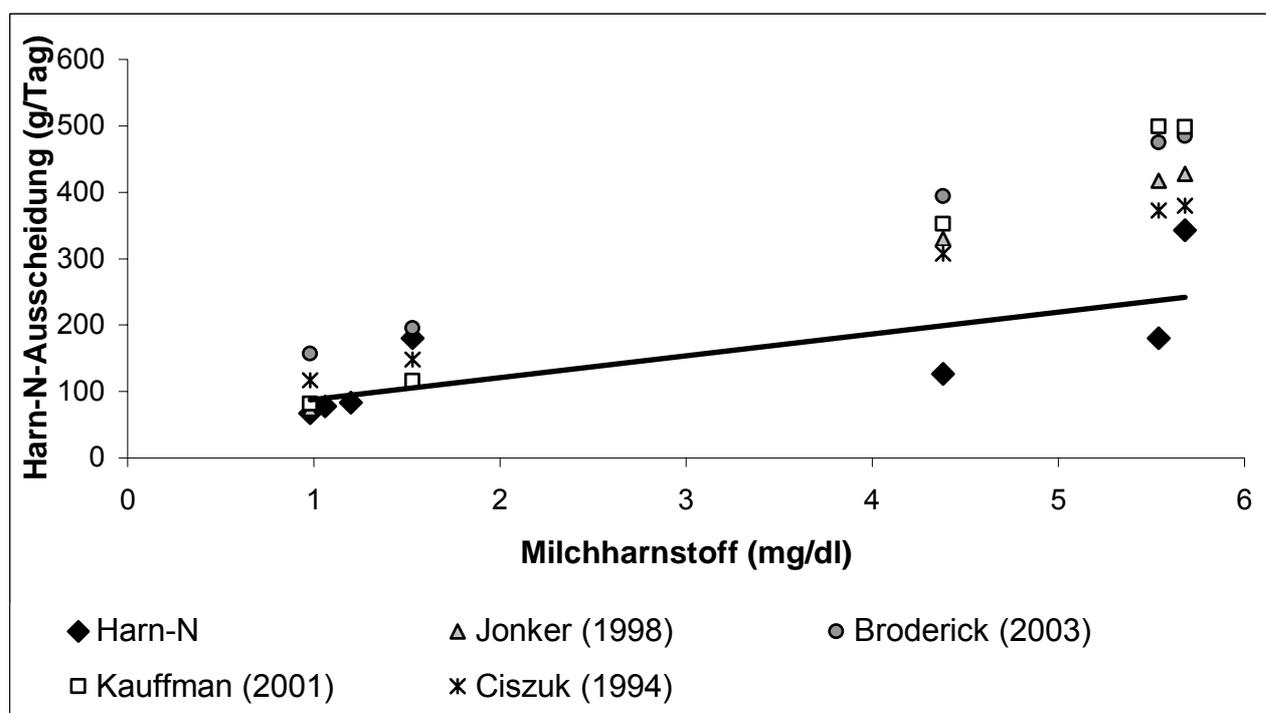


Abbildung 17: Gemessene Werte für die Harn-N-Ausscheidung im Vergleich zu den über verschiedene Gleichungen aus dem Milchwahnstoffgehalt errechnete Harn-N-Mengen

## 5.8. Parameter des Leberstoffwechsels

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden in den Blutproben zusätzlich die Gehalte an einigen, die Leberfunktion beschreibenden Parametern bestimmt. Ein Einfluss unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanzen auf den Cholesterin- und Bilirubingehalt sowie auf den Gehalt an  $\gamma$ -Glutamatttranssferase ( $\gamma$ GT) konnte dabei jedoch nicht festgestellt werden (s. 4.8., Tabelle 18). Somit war eine akute Störung der Leberfunktion auszuschließen (DIRKSEN et al. 2002). Dagegen zeigten die Größen, die eng mit dem Stoffwechsel der Aminosäuren und der Bildung von Harnstoff in Verbindung stehen, eine nachweisbare Beeinflussung durch die ruminale Stickstoffbilanz. Wie in Abbildung 18 dargestellt, lagen die Werte für die Glutamatdehydrogenase in allen Versorgungsstufen über dem oberen Grenzwert von 8 U/l (DIRKSEN et al. 2002). Dies deutet auf eine hohe Stoffwechselaktivität hin. Allerdings weisen KRAFT & DÜRR (1999) auf hohe Schwankungen der Aktivität der GLDH hin. Die gegenwärtig genutzten Grenzwerte stammen aus Zeiten weniger hochleistender Milchkühe. Ihre Gültigkeit als Beurteilung des Gesundheitszustandes der Milchkühe mit dem heutigen Leistungsniveau ist daher fraglich.

Die signifikanten Unterschiede im Gehalt an Glutamatdehydrogenase müssen jedoch kritisch behandelt werden, da die Standardabweichungen bei RNB = -0.6 von bis zu 43,2 U/l auf hohe tierindividuelle Schwankungen hinweisen.

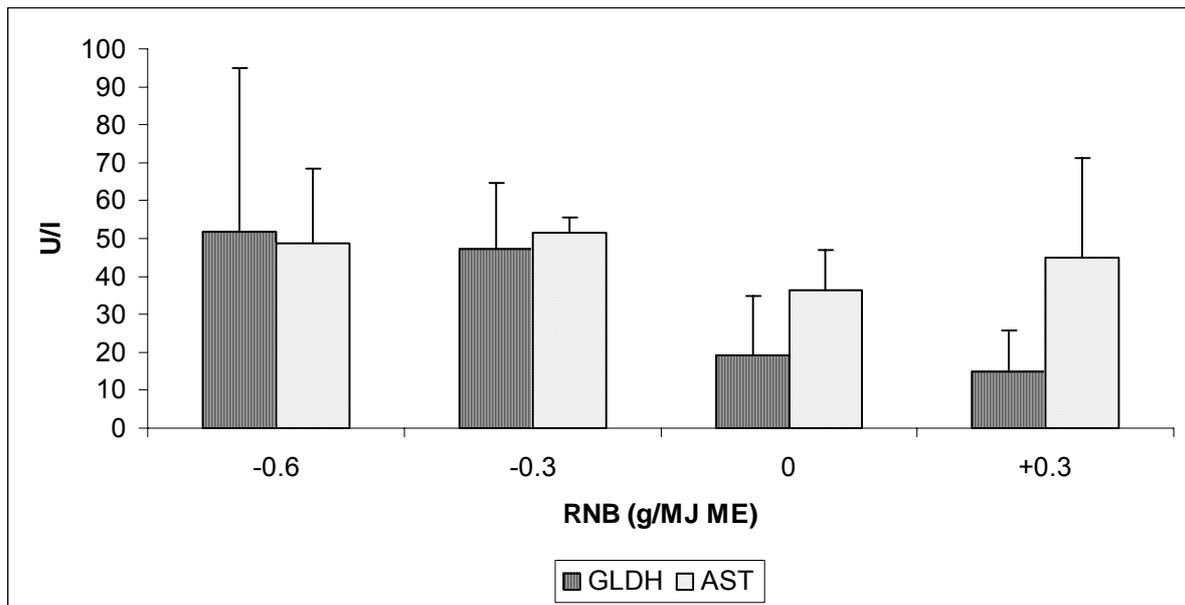


Abbildung 18: Mittlere Gehalte an Glutamat-Deyhydrogenase (GLDH) und Aspartat-Amino-Transferase (AST) im Blutserum in Abhängigkeit von der ruminalen Stickstoffbilanz

Die höchste GLDH-Konzentration (s. Tabelle 18) war bei der niedrigsten ruminalen Stickstoffbilanz zu finden (bei -0.6 g/MJ ME: 51,7 U/l). Ob dies ein Versuch des Organismus ist, über eine vermehrte Synthese von Glutaminsäure und daraus entstehendem Glutamin mehr Ausgangssubstrate für den Aufbau von Aminosäuren bereitzustellen oder aber ein Ausdruck eines geringen Verbrauches des Enzyms aufgrund eines geringeren „Entgiftungsbedarfes“, kann aus den vorliegenden Ergebnissen nicht abgeleitet werden. AST ist ebenfalls eng mit der Glutaminsynthese verknüpft, da es u.a. Ketoglutarat liefert, das wiederum zum Aufbau der Glutaminsäure benutzt wird. Auch hier ist der höhere Gehalt bei Unterversorgung mit RNB gegenüber der ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME) schwer zu erklären.

KAUFMANN et al. (1982) fanden im Gegensatz zu den vorliegenden Versuchen beim Einsatz von geschütztem Protein trotz sinkender ruminaler Ammoniak-N-Konzentration und Blutharnstoffwerten einen geringeren Gehalt der GLDH im Blutserum (von 12,4 auf 9,1 U/l). Der abweichende Befund könnte damit zusammenhän-

gen, dass aufgrund der höheren Menge an unabgebautem Futterprotein am Darm die nXP- d.h. Aminosäurenversorgung der Tiere eher verbessert als verschlechtert war und somit kein Anlass zu verstärkter Glutaminsynthese bestand.

## 6. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die mittlere ruminale  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration lag bei der Behandlung  $-0.6$  g RNB/MJ ME im kritischen Bereich ( $1,4$  mmol/l). Die höchste Fermentationsleistung, gekennzeichnet durch die tendenziell höchste Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren konnte in der Versorgungsstufe  $0$  g RNB/MJ ME gemessen werden. Bei dieser Behandlung war auch die signifikant höchste Menge an organischer Substanz fermentiert. Allerdings erfolgte durch die steigende Harnstoffzulage eine zunehmend niedrigere Zufuhr an organischer Masse, so dass dieser Faktor nicht raus korrigiert werden konnte.

Signifikante Unterschiede bezüglich der mikrobiellen Proteinsyntheseleistung waren lediglich zwischen der RNB  $-0.6$  und  $0$  g/MJ ME zu ermitteln. Die Tiere mit annähernd ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz zeigten im Mittel bei höchster Syntheseleistung an mikrobiellem Protein, auch den höchsten Anteil an UDP und die höchste Menge an nXP am Darm.

Es bestanden jedoch nur tendenzielle Unterschiede ( $p > 0,05$ ) zwischen der RNB  $0$  und den Behandlungen  $-0.3$  und  $+0.3$  g RNB /MJ ME.

Allerdings zeigte sich, dass die Unterschiede in der mikrobiellen Proteinsynthese auf Unterschiede im Umfang der Fermentation der organischen Masse bei gering abweichender Zufuhr an organischer Masse basierten, so dass die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese keine signifikanten Unterschiede aufwies.

Der Blutharnstoff-N-Gehalt sowie der Milchwahstoff-N-Gehalt liegen bei ausgeglichener RNB in den empfohlenen Bereichen. Dagegen weisen sie in den anderen Behandlungen auf eine zu ändernde Rationsgestaltung hin. Allerdings ist eine Übertragung auf praxisübliche Rationsgestaltungen infolge der nicht gebräuchlichen Harnstoffzulage für die Erhöhung der ruminale Stickstoffbilanz nur bedingt möglich.

Eine Erhöhung des pansenverfügbaren Stickstoffs auf +0.3 g RNB/MJ ME bei annähernd bedarfsgerechter nXP- und NEL-Versorgung ohne gleichzeitige Erhöhung der Energiezufuhr führte zu keiner Steigerung der mikrobiellen Proteinsynthese. Die bei dieser Behandlung sehr hohe ruminale Ammoniak-N-Konzentration und der hohe Blutharnstoff- und Milchwahnstoff-N-Gehalt weisen dagegen auf eine weniger effiziente N-Nutzung und mögliche Belastung des Tieres hin. Die bei dieser Behandlung ebenfalls höchste Harn-N-Menge deutet weiterhin auf eine unökonomische Nutzung und Belastung der Umwelt hin. Die in praxisüblichen Empfehlungen geforderte positive RNB in der Milchkuhfütterung bei bedarfsgerechter nXP-Versorgung scheint somit nicht notwendig zu sein.

Bei einer nur geringgradigen Unterversorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff (RNB = -0.3 g /MJME) sind die Abbau- und Syntheseleistungen nur in geringem Umfang gegenüber einer ausgeglichenen ruminalen Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME) herabgesetzt. Somit kann anhand der Versuchsergebnisse zumindest über den vorliegenden Versuchszeitraum eine gewisse Toleranz gegenüber einer geringgradig negativen RNB angenommen werden.

Eine stärker negative RNB (-0.6 g/MJ ME) ist dagegen zu vermeiden, da die Fermentations- und Syntheseleistungen deutlich reduziert sind.

Zur Überprüfung der hier getroffenen Schlussfolgerungen wären längerfristige Fütterungsversuche (z.B. über eine gesamte Laktationsperiode) insbesondere unter Berücksichtigung anderer Stickstoffquellen erforderlich.

## 7. ZUSAMMENFASSUNG

Andrea Riemeier

### **Einfluss der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB) auf die Pansenfermentation, mikrobielle Proteinsynthese, Menge des am Dünndarm anflutenden nutzbaren Proteins (nXP) sowie der Stickstoffausscheidung**

Zur Untersuchung des Einflusses der ruminalen Stickstoffbilanz (RNB) auf die Pansenfermentation, mikrobielle Proteinsynthese (MP), nXP-Menge sowie die N-Ausscheidung wurden 5 bzw. 7 an Pansen und Duodenum fistulierten Milchkühe eingesetzt. Das Verhältnis Grund- zu Kraftfutter lag auf T-Basis bei 50:50. Es wurde den Tieren täglich eine Ration bestehend aus 7,3 kg T Maissilage und 7,3 kg T einer von vier Kraftfuttermischungen vorgelegt, die im Mittel den Bedarf der Tiere an NEL und nXP decken sollte. Ausgehend von der Basismischung ohne Harnstoffzugabe, wurden steigende Anteile an Harnstoff in das Kraftfutter eingemischt, so dass die angestrebten RNB-Werte in der Gesamtration von -0,6; -0,3; 0 und +0,3 g/MJ ME erreicht werden konnten. Der Versuch unterteilte sich in vier Versuchsperioden, in denen die Tiere im Wechsel jeweils eine der vier Kraftfuttermischungen erhielten. Nach jeweils 14-tägiger Adaptation an die Ration wurden Pansensaftproben zur Charakterisierung des Pansenmilieus und Blutproben zur Bestimmung des Harnstoffgehaltes und weiterer Parameter gewonnen. In der vierten Versuchswoche wurden Duodenalchymus-Proben zur Ermittlung der Trockensubstanz- und Nährstoffflüsse am Dünndarm gewonnen. Als Marker für den Digestafluss diente  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ . Der Anteil des Mikroben-N am NAN des Duodenalchymus wurde mittels NIRS bestimmt. Zusätzlich wurden in der vierten Versuchsperiode Kot und Harn bei einigen Tieren gesammelt. In den wöchentlich gewonnenen Milchproben wurden die wesentlichen Milchinhaltstoffe bestimmt.

Ziel der Versuche war es, die Frage nach der geringstmöglichen Menge an Stickstoff im Pansen, die ohne negative Auswirkungen auf den Pansenmetabolismus bleibt, zu

klären. Es war nicht Ziel des Versuches Effekte einer unterschiedlichen Versorgung mit pansenverfügbarem Stickstoff auf die Milchleistung abzuleiten.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Der pH-Wert und die Konzentrationen an flüchtigen Fettsäuren im Pansen lagen bei allen Tieren im physiologischen Bereich. Durch eine unterschiedliche ruminale Stickstoffbilanz konnten in Bezug auf diese Parameter keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden.
- Die  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Pansensaft erhöhte sich bei steigender RNB von 1,1 auf 20,3 mmol/l. Die Behandlungen unterschieden sich mit Ausnahme der Versorgungsstufen -0.6 und -0.3 sowie -0.3 und 0 signifikant voneinander.
- Die  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration im Duodenalchymus stieg von 2,1 auf 8,1 mmol/l mit höherer ruminaler Stickstoffbilanz. Die Versorgungsstufen unterschieden sich mit Ausnahme der Behandlungen -0.3 und 0 signifikant voneinander.
- Die signifikant höchste Menge an NAN im Duodenum zeigte sich bei ausgeglichener RNB (0 g/MJ ME mit 364,9 g NAN/Tag).
- Die mikrobielle Proteinsynthese je Tag (g MP/Tag) sowie je MJ ME (g MP/ MJ ME) war in der Behandlung -0.6 signifikant geringer als bei ausgeglichener ruminaler Stickstoffbilanz (0 g/MJ ME) (1335,8 g MP/Tag gegenüber 1551,6 g MP/Tag bzw. 7,6 g MP/MJ ME gegenüber 8,7 g MP/MJ ME). Die ruminale Stickstoffbilanz zeigte jedoch aufgrund einer reduzierten Menge an fermentierter organischer Substanz bei sinkender RNB keine signifikanten Effekte auf die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese (zwischen 143 und 153 g MP/kg FOM).
- Der ruminale Proteinabbau nahm mit sinkender RNB zu und die Menge an unabgebautem Futterprotein (UDP) ab.

- Durch die reduzierte Menge an MP und UDP war auch die nXP-Menge bei einer RNB von -0,6 g/MJ ME niedriger als in den anderen drei Versorgungsstufen. Lediglich gegenüber der Behandlung 0 waren die Unterschiede signifikant.
- Der Harnstoff-N-Gehalt in der Milch stieg von 1,1 auf 5,4 mmol/l signifikant und im Serum von 1,0 auf 7,9 mmol/l hochsignifikant mit steigender ruminale Stickstoffbilanz an.
- Es bestanden enge Korrelationen zwischen der RNB und der NH<sub>3</sub>-N-Konzentration ( $r^2=0,78$ ) im Pansen sowie den Blut- ( $r^2=0,92$ ) und Milchwahnharnstoffgehalten ( $r^2=0,75$ ). Weiterhin korrelierten die ruminale NH<sub>3</sub>-N-Konzentration mit dem Blutharnstoffgehalt ( $r^2=0,73$ ) sowie der Blut- und Milchwahnharnstoffgehalt ( $r^2=0,83$ ) eng miteinander.
- Die mit Hilfe des Creatinins geschätzte Urin-N-Ausscheidung stieg mit höheren RNB-Werten von 67 auf 262 g/Tag an. Die Kot-N-Ausscheidung blieb annähernd gleich (zwischen 89 und 104 g/Tag).
- Eine Beeinflussung der Konzentrationen an Gesamtbilirubin, Cholesterin und  $\gamma$ -GT im Blutserum durch unterschiedliche ruminale Stickstoffbilanzen war nicht zu beobachten. Die Aktivitäten von GLDH und AST waren bei einer RNB von -0,6 g/MJ ME am höchsten bzw. am zweithöchsten.

Aus den vorliegenden Ergebnissen ergeben sich signifikant negative Effekte eines Stickstoffmangels auf die Pansenfermentation und die mikrobielle Proteinsynthese bei RNB-Werten von unter -0,3 g/MJ ME. Die besten Ergebnisse zeigten sich bei ausgeglichener RNB. Dagegen führte eine positive RNB zu keiner weiteren Steigerung der Abbau- und Syntheseleistungen der Pansenmikroorganismen.

## 8. SUMMARY

**Andrea Riemeier**

### **Influence of the ruminal nitrogen balance on rumen fermentation, microbial protein synthesis, amount of utilisable crude protein and nitrogen excretion**

To study the influence of the ruminal nitrogen balance (RNB) on rumen fermentation, microbial protein synthesis (MP), amount of utilisable crude protein (uCP) and N-excretion a series of experiments with 5 or 7 dairy cows fitted with ruminal and duodenal fistulae was performed. The rations were formulated on the basis of 50% roughage and 50% concentrate related to dry matter. The cows were fed 7.3 kg dry matter of maize silage and 7.3 kg of one of the 4 concentrate types, which were intended to meet the animals NEL and uCP requirements.

Proceeding on the basic concentrate (without urea) increasing urea supplements were incorporated in the concentrate so that the aimed RNB-values of -0.6; -0.3; 0 and +0.3 g/ MJ ME were fulfilled.

In the experiment, comprizing 4 periods, the cows were recurrently fed one of the 4 concentrates. After 14 days of adaptation samples of the rumen fluid were taken to characterize rumen conditions and blood samples to analyse urea concentrations and other parameters. In 4<sup>th</sup> experimental week samples of the duodenal chyme were taken to study the dry matter and nutrient flux, using Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> as marker. The microbial-N portion of NAN (non ammonia nitrogen) in the duodenal chyme was determined applying the NIRS technique. Faeces and urine were additionally collected of some dairy cows in the 4<sup>th</sup> experimental week. Milk yield was registered daily. Milk samples were taken once a week and analysed for nutrient (fat, protein, sugar) and urea content.

The aim of experiments was to clear the question on the lowest N-amount in the rumen, which does not negatively affect the rumen metabolism.

However, it was not intended to quantify the effect of rumen-available-N supply on milk performance.

The results can be summarized as follows:

- All cows showed pH-values and volatile fatty acid concentrations in the rumen fluid to be in the physiological range. The ruminal N-balance did not significantly affect these parameters.
- The  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration in the rumen fluid increased from 1.1 to 20.3 mmol/l with higher RNB. The treatments differed significantly except of those between the levels -0.6 und -0.3 or -0.3 and 0.
- $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration in the duodenal chyme increased from 2.1 to 8.1 mmol/l due to higher ruminal-N balances. The supply levels differed significantly except between the treatments -0.3 and 0.
- The significant highest amount of NAN at the duodenum was detected, when RNB showed an equilibrium (0 g/MJ ME with 364,9 g NAN/ d).
- The microbial protein synthesis (g MP/d and g MP/MJ ME) in the level -0.6 was significantly lower (1335,8 gMP/d and 7,9 g MP/MJ ME) across from 0 g RNB/MJ ME (1551,6 g MP/d and 8,7 g MP/MJ ME). However, the ruminal-N balance did not significantly effect the efficiency of microbial protein synthesis due to a reduced rate of fermented organic substance at a decreased RNB (between 143 and 153 g MP/kg FOM).
- The ruminal protein degradation increased with a decreasing RNB and the amount of undegraded feed protein (UDP) decreased.

- Due to the reduced amount of MP and UDP the quantity of uCP was lower at a RNB of -0.6 g/MJ ME as compared to the other levels of supply, but reaches significance only to treatment 0.
- The urea-N content in the milk increased significantly from 1.1 to 5.4 mmol/l and in the blood serum from 1.0 to 7.9 mmol/l, even high significantly ( $p < 0.01$ ), when the ruminal N-balance increased.
- The RNB was found to correlate closely with the  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration in the rumen as well as the urea concentrations in blood and milk. Additionally, correlations between ruminal  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration and urea concentrations in blood and milk were analysed.
- The urine-N excretion was estimated to increase with increasing RNB-values from 67 to 262 g/d, whereas the N-excretion with faeces remained almost constant (89-104 g/d).
- An effect on total bilirubine, cholesterine and  $\gamma$  GT due to different ruminal-N balances was not detected. The activity of GLDH and AST were highest or next highest, when the RNB was -0.6 g/MJ ME.

From these results it can be concluded that negative effects of N-deficiency occur on rumen fermentation and microbial protein synthesis, when RNB-values are below -0.3 g/MJ ME. Positive results were observed, when the RNB showed an equilibrium. However, a positive RNB did not increase the degradation and synthesis capacity of the microorganisms in the rumen.

## 9. LITERATURVERZEICHNIS

**Abel, H. J., Scholz, K., & Icking, H.** 1985. Zur Wirkung von frischem und oxidiertem Sojaöl auf die Nährstoffverdaulichkeiten beim Schaf. *Fetten, Seifen, Anstreichmittel* 87: 106-108.

**AFRC.** 1993. Energy and protein requirements of ruminants. p. 9-19. CAP International, Wallington, Großbritannien.

**Al-Rabbat, M. F., Baldwin, R. L., & Weir, W. C.** 1971. In vitro 15nitrogen-tracer technique for some kinetic measurements of ruminal ammonia. *J. Dairy Sci.* 54: 1150-1161.

**Aldrich, J. M., Muller, L. D., Varga, G. A., & Griel, L. C., Jr.** 1993. Nonstructural carbohydrate and protein effects on rumen fermentation, nutrient flow, and performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 1091-1105.

**Allen, S. A. & Miller, E. L.** 1976. Determination of nitrogen requirement for microbial growth from the effect of urea supplementation of a low N diet on abomasal N flow and N recycling in wethers and lambs. *Br. J. Nutr.* 36: 353-368.

**Allison, M. J.** 1970. Nitrogen metabolism in rumen microorganisms. In: Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Phillipsen, A.T. (ed.). Oriel, Newacastle upon Tyne, England

**Arieli, A., Shabi, Z., Bruckental, I., Tagari, H., Aharoni, Y., Zamwell, S., & Voet, H.** 1996. Effect of the degradation of organic matter and crude protein on ruminal fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79: 1774-1780.

**Baldwin, R. L.** 1970. Energy metabolism in anaerobes. *Am. J. Clin. Nutr.* 23: 1508-1513.

**Baldwin, R.L.** 1995. Modelling ruminant digestion and metabolism. Champan and Hall, London, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.

**Bates, D. B., Gillett, J. A., & Barao, S. A.** 1985. The effect of specific growth rate and stage of growth on nucleic acid-protein values of pure cultures and mixed ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.* 61: 713-724.

**Beever, D. E., Harrison, D. G., Thompson, D. J., Cammell, S. B., & Osbourn, D. F.** 1974. A method for the estimation of dietary and microbial protein in duodenal digesta of ruminants. *Br. J. Nutr.* 32: 99-112.

**Belzecki, G. & Michalowski, T.** 2001. The role of Eudiplodinium maggii in starch metabolism in the rumen. *J. Anim. Feed Sci.* 10 (Suppl.): 141-146.

**Bergen, W. G., Purser, D. B., & Cline, J. H.** 1968. Determination of limiting amino acids of rumen-isolated microbial proteins fed to rats. *J. Dairy Sci.* 51 (b): 1698-1700.

**Bergen, W. G., Purser, D. B., & Cline, J. H.** 1968. Effect of ration on the nutritive quality of rumen microbial protein. *J. Anim. Sci.* 27 (a): 1497-1501.

**Brink, D. R. & Steele, R. T.** 1985. Site and extend of starch and NDF digestion as affected by source of calcium and level of corn. *J Anim Sci.* 60: 1330-1337.

**Broderick, G.A.** 1982. Estimation of protein degradation using in situ and in vitro methods. In *Protein requirements of cattle: symposium*. p. 72-80. Owens, F. N. (Ed.). Oklahoma State Univ., Misc. Proc.

**Broderick, G. A.** 2003. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 1370-1381.

**Broderick, G. A. & Clayton, M. K.** 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 80: 2964-2971.

**Broderick, G. A., Wallace, R. J., & Orskov, E. R.** 1991. Control of rate and extent of protein degradation. In: *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Tsuda, T., Sasaki, Y., Kawashima, R. (ed.). Academic Press, Tokyo. 541-592.

**Brüggemann, J., Giesecke, D., & Drepper, K.** 1962. Die Beeinflussung von Zusammensetzung und Leistung der Pansenflora durch Verabreichung unterschiedlicher Stickstoffquellen. *Z. Tierphysiol., Tierernährg. und Futtermittelkde.* 17: 162-188.

**Bryant, M. P. & Robinson, I. M.** 1963. Apparent incorporation of ammonia and amino acid carbon during growth of selected species of ruminal bacteria. *J. Dairy Sci.* 46: 150-154.

**Bunting, L. D., Boling, J. A., & MacKown, C. T.** 1989a. Effect of dietary protein level on nitrogen metabolism in the growing bovine: I. Nitrogen recycling and intestinal protein supply in calves. *J. Anim. Sci.* 67: 810-819.

**Bunting, L. D., Boling, J. A., MacKown, C. T., & Davenport, G. M.** 1989b. Effect of dietary protein level on nitrogen metabolism in the growing bovine: II. Diffusion into and utilization of endogenous urea nitrogen in the rumen. *J. Anim. Sci.* 67: 820-826.

**Bunting, L. D., Boling, J. A., MacKown, C. T., & Muntifering, R. B.** 1987. Effect of dietary protein level on nitrogen metabolism in lambs: Studies using <sup>15</sup>N-nitrogen. *J. Anim. Sci.* 64: 855-867.

**Buttery, P. J. & Lewis, D.** 1982. Nitrogen metabolism in the rumen. P. 1-11. In *Forage Protein in Ruminant Animal Production*: Thomson, D. J., Beever, D. E. & Gunn, D. G. (Ed.). Occ. Publ. Brit. Soc. Anim. Prod., Univ. Nottingham School of Agriculture, Sutton Bonington, LH12 5RD, UK

**Byers, F. M.** 1974. The importance of associative effects of feeds on corn silage and corn grain net energy values. Ph. D. Dissertation Colorado State Univ., Fort Collins.

**Cabrita, A. R., Fonseca, A. J., Dewhurst, R. J., Sampaio, C. V., Miranda, M. F., Sousa, G. N., Miranda, I. M., & Gomes, E.** 2003. Nitrogen supplementation of corn silages. 1. Effects on feed intake and milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 4008-4019.

**Caroll, D. J., Baron, B. A., Anderson, G. W., & Smith, R. D.** 1988. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 71: 3470-3481.

**Castillo, A. R., Kebreab, E., Beever, D. E., Barbi, J. H., Sutton, J. D., Kirby, H. C., & France, J.** 2001. The effect of protein supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. *J. Anim. Sci.* 79: 247-253.

**Chalmers, M. I., Grand, I., & White, F.** 1976. Nitrogen passage through the wall of the ruminant digestive tract. In *Protein metabolism and nutrition*: Cole, D. J. A., Boorman, K. N., Buttery, P. J., Lewis, D., Neale, R. J. & Swan, H. (Ed.). Butterworths, London.

**Chamberlain, D. G., Thomas, P. C., & Wilson, A. G.** 1976. Efficiency of bacterial protein synthesis in the rumen of sheep receiving a diet of sugar beet pulp and barley. *J. Sci. Food Agric.* 27: 231.

**Chase, L. E.** 1993. Starch digestion in the dairy cow- what are the limits?. P. 90-97  
In: Proc. Cornell Nutr. Conf. for feed Manufacturers. Rochester.

**Christensen, R. A., Lynch, G. L., & Clark, J. H.** 1993. Influence of amount and de-gradability of protein on production of milk and milk components by lactating Holstein Cows. *J. Dairy Sci.* 76: 3490-3496.

**Ciszuk, P. & Gebregziabher, T.** 1994. Milk urea as an estimate of urine nitrogen of dairy cows and goats. *Acta Agric. Scand.* 44: 87-95.

**Ciszuk, P., Spörndly, E., Gebregziabher, T., & Oltner, R.** 1993. Diurnal variation in the urea content of blood, milk and urine in lactating cows and goats. In *Swedish Univ. Agric. Sci. Report 224*.

**Clark, J. H., Klusmeyer, T. H., & Cameron, M. R.** 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75: 2304-2323.

**Coleman, S.** 1975. The interrelationship between rumen ciliate protozoa and bacteria. p. 149. In: Digestion and metabolism in the ruminant. McDonald, I.W.; Warner, A.C.I. (ed.) Univ. New England Publ. Unit, Armidale, New South Wales, Austr.

**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. & Russel, J. B.** 1982. Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 65: 226-234.

**CVB (Centraal veevoederbureau).**1991. Eiwitwaardering voor herkauwers: Het DVE-Systeem. p. 53. (ed.) Lelystad.

**Dawson, J. M., Bruce, C. J., Buttery, P. J., Gill, M., & Beever, D. E.** 1988. Protein metabolism in the rumen of silage-fed steers: effect of fishmeal supplementation. *Br. J. Nutr.* 60: 339-353.

**Dehority, B.A.** 2003. Rumen microbiology. p. 372. Nottingham Univ. Press.

DeJong, J. 1997. Eiweißbewertungssystem und Futterwert von Rohstoffen. *Kraftfutter* 97: 476-478.

**Demeyer, D. & Van Nevel, C. J.** 1976. Tracer studies on non-protein nitrogen for ruminants. 3.Auflage. IAEA-publikation, Wien.

**DePeters, E. J. & Cant, J. P.** 1992. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. *J Dairy Sci* 75: 2043-2070.

**Devendra, C. & Lewis, D.** 1974. The interaction between dietary lipids and fibre in the sheep. *Anim. Prod.* 19: 67-76.

**Dewhurst, R. J., Davies, D. R., & Merry, R. J.** 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Animal Feed Science and Technology* 85: 1-21.

**Dierchen, E., Hoffmann, M., Boldt, E., & Ulbrich, M.** 1982. Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Faktoren auf Kennzahlen der Pansenprotozoen bei Mastbulen. *Arch. Tierernähr.* 32: 209-220.

**Dirksen, G., Gründer, H.-D., & Stöber, M.** 2002. Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. 4. Auflage. P. Parey Buchverlag.

**DLG-Futterwerttabelle für Wiederkäuer.** 1997. *Erarbeitet von der Dokumentationsstelle der Universität Hohenheim.* 7. erweiterte und neugestaltete Ausgabe. ed. DLG-Verlag, Frankfurt am Main.

**Eadie, J., Margret, J., Hyldgaard-Jensen, S. O., Mann, R. S., & Reid, R. S.** 1970. Observations on the microbiology and biochemistry of the rumen in cattle given different quantities of a pelleted barley ration. *Br. J Nutr* 24: 157-177.

**Ebersdobler, H. & Zucker, H.** 1980. Harnstoffgehalt der Milch-ein Indikator der Proteinversorgung von Milchkühen. *Kraftfutter* 80: 10-12.

**Engelhardt v., W. & Breves, G.** 2000. Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart.

**Engling, F. P.** 1988. Überprüfung verschiedener Gärfutter unter ernährungsphysiologischen Aspekten: Ein Beitrag zur Erweiterung des Basis wirtschaftseigener Futtermittel in der Milchviehfütterung. Dissertation Universität Göttingen.

**Erasmus, L. J., Botha, P. M., & Meissner, H. H.** 1994. Effect of protein source on ruminal fermentation and passage of amino acids to the small intestine of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 77: 3655-3665.

**Erdmann, R. A., Proctor, G. H., & Vandersall, J. H.** 1986. Effect of rumen ammonia concentration on in situ rate and extent of digestion of feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 69: 2312-2320.

**Erfle, J. D., Boila, R. J., Teather, R. M., Mahadevan, S., & Sauer, F. D.** 1982. Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.* 65: 1457-1464.

**Evans, C. C., Axford, R. F. E., & Offer, N. W.** 1975. A method for estimating the quantities of microbial and dietary proteins flowing in the duodenal digesta of ruminants. *Proc. Nutr Soc.* 34: 65A.

**Faverdin, P., M'hamed, D., & Verité, R.** 2003. Effects of metabolizable protein on intake and milk production of dairy cows independent of effects on ruminal digestion. *Animal Science* 76: 137-146.

**Faverdin, P. & Verité, R.** 1998. Use of milk urea concentration as an indicator of protein nutrition and nitrogen losses in dairy cows (Utilisation de la teneur en urée du lait comme indicateur de la nutrition protéique et des rejets azotés chez la vache laitière). *Rencontres Recherches Ruminants* 5: 209-212.

**Ferguson, J. D., Galligan, D. T., Blanchard, T., & Reeves, M.** 1993. Serum urea nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. *J. Dairy Sci.* 76: 3742-3746.

**Firkins, J. L., Berger, L. L., Fahey, G. C., & Merchen, N. R.** 1984. Ruminal nitrogen degradability and escape of wet and dry distillers grains and wet and dry corn gluten feeds. *J. Dairy Sci.* 67: 1936-1944.

**Firkins, J. L., Berger, L. L., Merchen, N. R., Fahey, J., & Mulvaney, R. L.** 1987. Ruminal nitrogen metabolism in steers as affected by feed intake and dietary urea concentration. *J. Dairy Sci.* 70: 2302-2311.

**Foldager, J. & Huber, J. T.** 1979. Influence of protein percent source on cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 62: 954-964.

**Folman, Y., Neumark, H., Kaim, M., & Kaufmann, W.** 1981. Performance, rumen and blood metabolites in high-yielding cows fed varying protein percents and protected soybean. *J. Dairy Sci.* 64: 759-768.

**French, D.** 1973. Chemical and physical properties of starch. *J. Anim. Sci.* 37: 1048-1061.

**Gabler, M. T. & Heinrichs, A. J.** 2003. Effects of increasing dietary protein on nutrient utilization in heifers. *J. Dairy Sci.* 86: 2170-2177.

**Garrett, J. E., Goodrich, R. D., Meiske, J. C., & Stern, M. D.** 1987. Influence of supplemental nitrogen source on digestion of nitrogen, dry matter and organic matter and on in vivo rate of ruminal protein degradation. *J. Anim. Sci.* 64: 1801-1812.

**Geissler, C., Hoffmann, M., & Hickel, B.** 1976. Ein Beitrag zur gaschromatischen Bestimmung flüchtiger Fettsäuren. *Arch. Tierernährung* 26: 123-129.

**GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie).** 1997. Mitteilungen des Ausschusses für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Zum Proteinbedarf von Milchkühen und Aufzuchtrindern. 6: 217-236.

**GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie).** 2001. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. DLG-Verlag, Frankfurt am Main

**Girard, C. L.** 1998. B-complex vitamins for dairy cows: A new approach. *Can. J. Anim. Sci.* 78: 71-90.

**Godden, S. M., Lissemore, K. D., Kelton, D. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & Lumsden, J. H.** 2001. Relationships between milk urea concentrations and nutritional, management, production and economic variables in Ontario dairy herds. *J Dairy Sci* 84: 1128-1139.

**Goering, H. J. & Van Soest, P. J.** 1970. Forage fiber analysis. (Apparatus, Reagents, Procedure and some Applications). *Agric. Res. Service Agr. Handbook* No. 379, Washington.

**Grainger, R. B., Bell, M. C., Stroud, J. W., & Baker, F. H.** 1961. Effect of various cations and corn oil on crude cellulose digestibility by sheep. *J. Anim. Sci.* 20: 219-322.

**Greife, N. A., Rooke, J. A., & Armstrong, D. G.** 1985. The digestion by cattle of silage-containing diets fed at two dry matter intakes. 2. Digestion of total amino acids and of D-alanine and D-glutamic acid. *Br. J. Nutr.* 54: 483-492.

**Griffiths, T. W.** 1984. Studies on the protein requirements of growing cattle. Effects of differing intakes of protein and energy on growth and nitrogen metabolism in young entire males. *Br. J. Nutr.* 51: 133-143.

**Griswold, K. E., Apgar, G. A., Bouton, J. & Firkins, J. L.** 2003. Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 81: 329-336.

**Griswold, K. E., Hoover, W. H., Miller, T. K., & Thayne, W. V.** 1996. Effects of form nitrogen on growth of ruminal microbes in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 74: 483-491.

**Gustafsson, A. H. & Palmquist, D. L.** 1993. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. *J. Dairy Sci.* 76: 475-484.

**Ha, J. K. & Kennelly, J. J.** 1984. Effect of protein on nutrient digestion and milk production by Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 67: 2302-2307.

**Haag, T.** 1988. Interpretive value of urea determination in the milk of cattle with special reference to systematic examinations. Dissertation, Justus-Liebig-Universität, Giessen.

**Hagemeister, H., Lüpping, W., & Kaufmann, W.** 1981. Microbial synthesis and digestion in the high-yielding dairy cows. p. 31-48. In: Recent development in ruminant fermentation. Haresign, W. and Cole, D.S. (ed.).

**Harmeyer, J. & Martens, H.** 1980. Aspects of urea metabolism in ruminants with reference to the goat. *J. Dairy Sci.* 63: 1707-1728.

**Henderson, C.** 1973. The effects of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria. *J. agric. Sci.* 81: 107-112.

**Henning, P. H., Stern, D. G., & Meissner, H. H.** 1993. Effect of energy and nitrogen supply on ruminal characteristics and microbial growth. *J. Anim. Sci.* 71: 2516-2528.

**Herrera-Saldana, R. E., Gomez-Alarcon, R., Torabi, M., & Huber, J. T.** 1990. Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. *J. Dairy Sci.* 73: 142-148.

**Herrera-Saldana, R. E. & Huber, J. T.** 1989. Influence of varying protein and starch degradabilities on performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 73: 2386-2393.

**Hespell, R. B. & Bryant, M. P.** 1979. Efficiency of rumen microbial growth: influence of some theoretical and experimental factors (ATP). *J. Anim. Sci.* 49: 1640-1659.

**Hobson, P.N.** 1988. The rumen microbiology ecosystem. Elsevier Sci. Publishers LTD, Barking, England.

**Hof, G., Vervoorn, M. D., Leaners, P. J., & Tamminga, S.** 1997. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 3333-3340.

**Hoffmann, P. C., Esser, N. M., Baumann, L. M., Denzine, S. L., Engstrom, M., & Chester-Jones, H.** 2001. Short communication: Effect of dietary protein on growth and nitrogen balance of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 84: 843-847.

**Hofmann, W.** 1992. Erkrankungen des Verdauungsapparates. In: Rinderkrankheiten Band 1, Innere und chirurgische Erkrankungen. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.

**Hogan, J. P. & Weston, R. H.** 1971. The utilization of alkali-treated straw by sheep. *Austr. J. Agric. Res.* 22: 951.

**Hojman, D., Kroll, O., Adin, G., Gips, M., Hanonchi, B., & Ezra, E.** 2004. Relationships between milk urea and production, nutrition, and fertility traits in Israeli dairy herds. *J. Dairy Sci.* 87: 1001-1011.

**Holthausen, A., Rodehutscord, M., Trimborn, M., & Pfeffer, E.** 2000. Einfluss einer negativen RNB auf die N-Bilanz laktierender Milchkühe. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 9: 107.

**Hoover, W. H. & Stokes, S. R.** 1991. Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74: 3630-3644.

**Houpt, T. R.** 1970. Transfer of urea and ammonia to the rumen. In *The physiology of digestion and metabolism*: 119. Phillipson, A. T. (Ed.). Oriel Press, Newcastle upon Tyne, England.

**Hungate, R. E.** 1966. The rumen and its microbes. Academic Press, New York.

Huntington, G. B. 1997. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75: 852-867.

**Ide, Y., Shimbayashi, K., & Yoneura, T.** 1966. Effect of dietary conditions upon serum- and milk-urea nitrogen in cows. I. Serum- and milk-urea nitrogen affected by protein intake. *Jap. J. vet. Sci.* 28: 321-327.

**Ikwuegbu, O. A. & Sutton, J. D.** 1982. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* 48: 365-375.

**INRA (Institut National de la Recherche Agronomique).** 1989. Ruminant nutrition - Recommended allowances and feed tables. p. 389. (ed.) R. Jarrige, J.L. Eurotext, London, Paris.

**Joanning, S. W., Johnson, D. E., & Barry, B. P.** 1981. Nutrient digestibility depression in corn silage-corn grain mixtures fed to steers. *J. Anim. Sci.* 53: 1095-1103.

**Johnson, B. C., Hamilton, T. S., Robinson, W. B., & Garey, T. C.** 1944. On the mechanism of non-protein nitrogen utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 3: 287-298.

**Johnson, R. R.** 1976. Influence of carbohydrate solubility on non-protein nitrogen utilization in the ruminant. *J. Anim. Sci.* 43: 184-191.

**Jonker, J. S., Kohn, R. A., & Erdmann, R. A.** 1998. Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81: 2681-2692.

**Kabara, J. J.** 1984. Antimicrobial agents derived from fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61: 397-403.

**Kamphues, J.** 1998. Probleme der art- und bedarfsgerechten Fütterung landwirtschaftlicher Nutztiere. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 105: 117-123.

**Kamphues, J., Schneider, D., Leibetseder, J.** 1999. Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung, Verlag M. u. H. Schaper Alfeld-Hannover. 9. Auflage.

**Karlson, P.** 1984. Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. 12. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

**Kaswari, T., Lebzien, P., ter Meulen, U., & Flachowsky, G.** 2003. Effects of synchronisation of protein and energy availability in the rumen on microbial protein synthesis in dairy cows. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 12: 86.

**Kauffman, A. J. & St Pierre, N. R.** 2001. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 84: 2284-2294.

**Kauffmann, A. J. & St Pierre, N. R.** 1999. Effect of breed and concentrations of dietary crude protein and fiber on milk nitrogen. p. 60-65. Ohio Agricultural Research and Development Center-Wooster, No. 169.

**Kaufmann, W.** 1972. Verdauungsphysiologische Messungen zur biologischen Fütterungstechnik bei Milchkühen. *Kieler Milchwirtschaftl. Forsch. -Ber.* 24: 139-155.

**Kaufmann, W.** 1979. "Geschütztes" Eiweiß in der Rinderfütterung. *DLG-Mitteilungen* 7 (a).

**Kaufmann, W., Lotthammer, K. H., & Lüpping, W.** 1982. Zum Einfluss eines verminderten Proteingehaltes der Ration (über Verwendung von geschütztem Protein) auf Milchleistung und einige Blutparameter als Kennzeichen der Leberbelastung. *Z. Tierphysiol., Tierernährg. und Futtermittelkde.* 47: 85-101.

**Kebreab, E., France, J., Mills, J. A., Allison, R., & Dijkstra, J.** 2002. A dynamic model of N metabolism in the lactating dairy cow and an assessment of impact of N excretion on the environment. *J. Anim. Sci.* 80: 248-259.

**Kennedy, P. M. & Milligan, L. P.** 1978a. Effects of cold exposure on digestion, microbial synthesis and nitrogen transformations in sheep. *Br. J. Nutr.* 39: 105-117.

**Kennedy, P. M. & Milligan, L. P.** 1978b. Transfer of urea from blood to the rumen of sheep. *Br. J. Nutr.* 40: 149-154.

**Kirchgessner, M.** 1997. Tierernährung. Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis. 10. Auflage. Verlags Union Agrar, Main, München, Münster, Wien, Wabern.

**Kirchgessner, M., Kreuzer, M., & Roth-Maier, D. A.** 1986. Milk urea and protein content to diagnose energy and protein malnutrition of dairy cows. *Arch. Anim. Nutr.* 36: 192-197.

**Kirchgessner, M. & Windisch, W.** 1989. Harnstoffgehalt der Milch und Allantoinausscheidung von Kühen während und nach Energie- und Proteinmangel. 4.Mitteilung. Zum Einfluss eines Energie- und Proteinmangels bei laktierenden Kühen und daraus entstehenden Folgewirkungen. *J Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 62: 113-118.

**Kirkpatrick, B. K. & Kennelly, J. J.** 1989. Influence of supplemental protein source and protein concentration on ruminal and intestinal digestion in heifers. *J. Anim. Sci.* 67: 2743-2750.

**Kluth, H., Engelhard, T., & Rodehutsord, M.** 2003. Zur Notwendigkeit eines Überschusses in der Stickstoffbilanz im Pansen von Kühen mit hoher Milchleistung. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 87: 280-291.

**Kohn, R. A., Dou, Z., Ferguson, J. D., & Boston, R. C.** 1997. A sensitivity analysis of nitrogen losses from dairy farms. *J. Environ. Manag.* 50: 417-428.

**Kohn, R. A., Kalscheur, K. F., & Russek-Cohen, E.** 2001. Evaluation of models to predict urinary excretion and milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 84 (Suppl): 162.

**Kotarski, S. F., Waniska, R. D., & Thurn, K. K.** 1992. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *J. Nutr.* 122: 178-190.

**Kotterer, L. & Münch, S.** 1985. Untersuchungsverfahren für das milchwirtschaftliche Laboratorium. In *Arbeitsgemeinschaft für das milchwirtschaftliche Fachbuch*: 13-25. Volkswirtschaftlicher Verlag München, Verlag. TH. Mann Gelsenkirchen.

**Kowalczyk, J., Orskov, E. R., Robinson, J. J., & Stewart, C. S.** 1977. Effect of fat supplementation on voluntary feed intake and rumen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* 37: 251-257.

**Kraft, W. & Dürr, U. M.** 1999. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 5.Auflage. Schattauer Verlag, Stuttgart und New York.

**Krastanova, M.** 1993. Untersuchungen zum Einsatz von "geschütztem " Rapsschrot in der Milchviehfütterung. Dissertation, Universität Göttingen.

**Kriete, V., Meyer, U., Lebzien, P., & Liebert, F.** 2004. Effect of varying ruminal N-balance on feed intake and milk yield of dairy cows. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 13: 46.

**Kröber, T. F., Kulling, D. R., Menzi, H., Sutter, F., & Kreuzer, M.** 2000. Quantitative effects of feed protein reduction and methionine on nitrogen use by cows and nitrogen emission from slurry. *J. Dairy Sci.* 83: 2941-2951.

**Lebzien, P.** 1996. Das deutsche Proteinbewertungssystem für Wiederkäuer in der Diskussion. *Kraftfutter* 79: 447-451.

**Lebzien, P., Kaswari, T., & Flachowsky, G.** 2003. Untersuchungen zum Einfluss der Synchronisation der Energie- und Stickstofffreisetzung im Pansen auf den Pansenstoffwechsel und die N-Ausscheidung mit der Milch. *Forum der angewandten Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda*. 25-29.

**Lebzien, P. & Paul, C.** 1997. Use of near-infrared reflectance spectroscopy for the estimation of the microbial portion of non-ammonia-nitrogen in the duodenum of dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 68: 225-233.

**Lebzien, P. & Rohr, K.** 1994. Bestimmung der wahren Verdaulichkeit von Aminosäuren aus dem Dünndarm von Milchkühen. *Arch. Anim. Nutr.* 45: 355-362.

**Lebzien, P., Rohr, K., & Schafft, H.** 1983. Vergleichende Untersuchung über die N-Umsetzungen im Verdauungstrakt von Milchkühen bei Verfütterung von Weizen bzw. Körnermais. *Landbauforschung Völkenrode* 2: 57-64.

**Lebzien, P. & Voigt, J.** 1999. Calculation of utilizable crude protein at the duodenum of cattle by two different approaches. *Arch. Anim. Nutr.* 52: 363-369.

**Lewis, T. R. & Emery, R. S.** 1962. Intermediate products in the catabolism of amino acids by rumen organism. *J. Dairy Sci.* 45: 1363-1368.

**Ling, J. R. & Buttery, P. J.** 1978. The simultaneous use of ribonucleid acid, <sup>35</sup>S, 2,6-diaminopimelic acid and 2-aminoethylphosphonic acid as markers of microbial nitrogen entering the duodenum of sheep. *Br. J. Nutr.* 39: 165-179.

**Lu, C. D., Jorgensen, N. A., & Amundson, C. H.** 1982. Ruminal degradation and intestinal absorption of alfalfa protein concentrate by sheep. *J. Anim. Sci.* 54: 1251-1262.

**Mabjeesh, S. J., Arieli, A., Bruckental, I., Zamwell, S., & Tagari, H.** 1997. Effect of ruminal degradability of crude protein and nonstructural carbohydrates on the efficiency of bacterial crude protein synthesis and amino acid flow to the abomasum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 2939-2949.

**Maczulak, A. E., Dehority, B. A., & Palmquist, D. L.** 1981. Effect of long-chain fatty acids on the growth of rumen bacteria. *Appl. Microbiol.* 42: 856-862.

**Madsen, J.** 1985. The basis for the proposed Nordic protein evaluation system for ruminants. The AAT-PBV System. *Acta Agric. Scand.* 25 (Suppl.): 9-20.

**Maeng, W. J., Van Nevel, C. J., Baldwin, R. L., & Morris, J. G.** 1975. Rumen microbial growth rates and yields: effect of amino acids and protein. *J. Dairy Sci.* 59: 68-79.

**Mathison, G. W. & Milligan, L. P.** 1971. Nitrogen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* 25: 351-366.

**Matthé, A., Lebzien, P., Hric, I., Flachowsky, G., & Sommer, A.** 2001. Effect of starch application into the proximal duodenum of ruminants on starch digestibility in the small and total intestine. *Arch. Anim. Nutr.* 55: 351-369.

**McAllan, A. B., Siddons, R. C., & Beever, D. E.** 1986. The efficiency of conversion of degraded nitrogen to microbial nitrogen in the rumen and cattle. R.Jarridge and G.Oldham (Ed.) Feed evaluation and protein requirement systems for ruminants. 111-128.

**McAllan, A. B. & Smith, R. H.** 1972. Nucleic acids in ruminant digesta as indices of microbial nitrogen. *Proc. Nutr. Soc.* 31: 24A.

**McAllan, A. B. & Smith, R. H.** 1984. The efficiency of microbial protein synthesis in the rumen and the degradability of feed nitrogen between the mouth and abomasum in steers given different diets. *Br. J. Nutr.* 51: 77-83.

**McMeniman, N. P.** 1975. Aspect of nitrogen digestion in the ruminant. PhD Thesis, University of Newcastle upon Tyne.

**Mehrez, A. Z., Orskov, E. R., & McDonald, I.** 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *Br. J. Nutr.* 68: 437-443.

**Mercer, J. R., Allen, S. A., & Miller, E. L.** 1980. Rumen bacterial protein synthesis and the proportion of dietary protein escaping degradation in the rumen of sheep. *Br. J. Nutr.* 43: 421-433.

**Methodenbuch III der VDLUFA.** 1976. Methodenbuch der landwirtschaftlichen Forschungs- und Untersuchungsanstalt, Biochemische Untersuchungen von Futtermitteln, Vorschrift 4.1.1.: Bestimmung von Rohprotein, Kjeldahl-Aufschluss; Vorschrift 5.1.2.: Bestimmung von Rohfett, Vorschrift 6.1.4.: Bestimmung von Rohfaser, Vorschrift 8.1.: Bestimmung von Rohasche. VDLUFA-Verlag, J. Naumann, Darmstadt

**Monteils, V., Jurjanz, S., Blanchart, G., & Laurent, F.** 2002. Nitrogen utilisation by dairy cows fed diets differing in crude protein level with a deficit in ruminal fermentable nitrogen. *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 545-557.

**Moorby, J. M. & Theobald, V. J.** 1999. Short communication: the effect of duodenal ammonia infusions on milk production and nitrogen balance of the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 82: 2440-2442.

**Morrison, I. M.** 1979. Carbohydrate chemistry and rumen digestion. *Proc.Soc.Nutr.Physiol.* 38: 269.

**Moscardini, S., Wright, T. C., Luimers, P. H., McBride, B. W., & Susmel, P.** 1998. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivate and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. *J. Dairy Sci.* 81: 2329-2421.

**Neutze, S. A., Kellaway, R. C., & Faichney, G. J.** 1986. Kinetics of nitrogen transfer across the rumen wall of sheep given a low-protein roughage. *Br. J. Nutr.* 56: 497-507.

**Nocek, J. E. & Russel, J. R.** 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71: 2070-2107.

**Nocek, J. E. & Tamminga, S.** 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J Dairy Sci.* 74:3598-3629 .

**Nolan, J. V., Norton, B. W., & Leng, R. A.** 1976. Further studies of the dynamics of nitrogen metabolism in sheep. *Br. J Nutr* 35: 127-147.

**Nugent, J. H. A., Jones, W. T., Jordon, J. T., & Mangan, J. L.** 1983. Rates of proteolysis in the rumen of soluble proteins, casein, Fraction I(18S) leaf protein, bovine serum albumine and bovine submaxillary mucoprotein. *Br. J Nutr.* 50: 357-368.

**Offer, N. W., Axford, R. F. E., & Evans, R. A.** 1978. The effect of dietary energy source on nitrogen metabolism in the rumen of sheep. *Br. J. Nutr.* 40: 35-44.

**Oltjen, R. R.** 1969. Effects of feeding ruminants non-nitrogen as the only nitrogen source. *J. Anim. Sci.* 28: 673-682.

**Oltner, R., Emanuelson, M., & Wiktorsson, H.** 1985. Urea concentrations in milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and amount and composition of feed given to dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 12: 47-57.

**Oltner, R. & Wiktorsson, H.** 1983. Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 10: 457-467.

**Orskov, E. R.** 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. *J Anim Sci.* 63: 1624-1633.

**Orth, A. & Kaufmann, W.** 1961. Die Verdauung im Pansen und ihre Bedeutung für die Fütterung der Wiederkäuer. Parey Verlag. Hamburg und Berlin.

**Peterson, A. B., French, K. R., Russek-Cohen, E., & Kohn, R. A.** 2004. Comparison of analytical methods and the influence of milk components on milk urea nitrogen recovery. *J. Dairy Sci.* 87: 1747-1750.

**Pfeffer, E.** 1987. Protein- und Energiestoffwechsel. In: Lehrbuch der Veterinärphysiologie. Scheunert, A., Trautmann, A. (ed.). 7.Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.

**Piatkowski, B., Gürtler, H., & Voigt, J.** 1990. Grundzüge der Wiederkäuerernährung. Gustav Fischer Verlag, Jena.

**Piatkowski, B., Voigt, J., & Girschewski, H.** 1981. Einfluss des Rohproteinniveaus auf die Fruchtbarkeit und den Harnstoffgehalt in Körperflüssigkeiten bei Hochleistungskühen. *Arch. Tierernährung* 31: 497-504.

**Pilgrim, A. F., Gray, F. V., Weller, R. A., & Belling, C. B.** 1970. Synthesis of microbial protein from ammonia in the sheep's rumen and the proportion of dietary nitrogen converted into microbial nitrogen. *Br. J Nutr* 24: 589-598.

**Pirt, S. J.** 1965. The maintenance energy of bacteria in growing cultures. *Proc. R. Soc. B* 163: 224-240.

**Pittman, K. A. & Bryant, M. P.** 1964. Peptides and other nitrogen sources for growth of *Bacteroides rumenicola*. *Br. J. Nutr.* 18: 589.

**Pittman, K. A., Lakshmanan, S., & Bryant, M. P.** 1967. Oligopeptide uptake by *Bacteroides rumenicola*. *J. Bacteriol.* 88: 401.

**Puchala, R. & Kulasek, K.** 1991. Evaluation of allantoin as a marker for microbial protein synthesis in the sheep. *6th Symposium on Protein Metabolism and Nutrition*, 9-14 June, Herning Denmark.

**Purser, D. B. & Büchler, S. M.** 1966. Amino acid composition of rumen organisms. *J. Dairy Sci.* 49: 81-84.

**Püschner, A. & Simon, O.** 1988. *Grundlagen der Tierernährung*. 4.Auflage. Gustav Fischer Verlag, Jena.

**Putnam, D. E. & Varga, G. A.** 1998. Protein density and its influence on metabolite concentration and nitrogen retention by Holstein cows in late gestation. *J. Dairy Sci.* 81: 1608-1618.

**Quigley, J. D. & Schwab, C. G.** 1988. Comparison of D-alanine and diaminopimelic acid as bacterial markers in young calves. *J. Anim. Sci.* 66: 758-763.

**Rajala-Schultz, P. J., Saville, W. J. A., Frazer, G. S., & Wittum, T. E.** 2001. Association between milk urea nitrogen fertility in Ohio dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84: 482-489.

**Refsdal, A. O.** 1983. Urea in bulk milk as compared to the herd mean of urea in blood. *Acta vet. scand.* 24: 518-520.

**Richardson, J. M., Sinclair, L. A., & Wilkinson, R. G.** 2000. The effects of sequence of feed allocation within the day on microbial protein production and diet digestibility in lambs fed barley or sugar beet based diets. *Proc. Br. Soc. Anim. Sci.* 96.

**Robinson, P. H., McQueen, R. E., & Burgees, P. L.** 1991. Influence of rumen undegradable protein levels on feed intake and milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74 : 1623-1631.

**Rodriguez, L. A., Stallings, C. C., Herbein, J. H., & McGilliard, M. L.** 1997. Effect of degradability of dietary protein and fat on ruminal, blood, and milk components of Jersey and Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80: 353-363.

**Rohr, K.** 1986. Physiological aspects in the rumen in relation to the level of production in ruminants. *Arch. Anim. Nutr.* 2-3: 182-192.

**Rohr, K., Brandt, M., Castrillo, O., Lebzien, P., & Assmus, G.** 1979. Der Einfluss eines teilweisen Ersatzes von Futterprotein durch Harnstoff auf den Stickstoff- und Aminosäurenfluss am Duodenum. *Landbauforschung Völkenrode* 29: 32-40.

**Rohr, K., Lebzien, P., & Oslage, J.** 1988. Dietary effects on microbial nitrogen flow to the duodenum. *Wiss. Z. WPU* 37 (N-Reihe): 27-28.

**Ropstad, E., Vik-Mo, L., & Refsdal, A. O.** 1989. Levels of milk urea, plasma constituents and rumen liquid ammonia in relation to the feeding of dairy cows during early lactation. *Acta vet. scand.* 30: 199-208.

**Roseler, D. K., Ferguson, J. D., Sniffen, C. J., & Herrema, J.** 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76: 525-534.

**Ruiz, R., Tedeschi, L. O., & Fox, D. G.** 2001. The effect on milk production of a ruminal nitrogen (N) deficiency in dairy cows: evaluation of the cornell net carbohydrate and protein system (CNPS) ruminal N deficiency adjustment. *J. Dairy Sci.* 84(Suppl.): 162.

**Russel, J. B. & Baldwin, R. L.** 1978. Substrate preferences in rumen bacteria: evidence of catabolite regulatory mechanism. *Appl. Environ. Microbiol.* 36: 319-329.

**Russel, J. B. & Baldwin, R. L.** 1979. A comparison on substrate affinities among several rumen bacteria: a possible determinant of bacterial competition. *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 531-536.

**Russel, J. B., Sharp, W. M., & Baldwin, R. L.** 1979. The effect of pH on maximum bacterial growth rate and its possible role as a determinant of bacterial competition in the rumen. *J. Anim. Sci.* 48: 251-255.

**Russel, J. B., Sniffen, C. J., & Van Soest, P. J.** 1983. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. *J. Dairy Sci.* 66: 763-775.

**Russel, J. B. & Hespell, R. B.** 1981. Microbial rumen fermentation. *J. Dairy Sci.* 64: 1153-1169.

**Russel, J. B., O'Connor, J. D., Fox, D. G., & Van Soest, P. J.** 1986. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 14: 11-27.

**Salter, D. N., Daneshvar, K., & Smith, R. H.** 1978. The origin of nitrogen compounds in the rumen bacteria of steers given protein- and urea-containing diets. *Br. J. Nutr.* 41: 197-209.

**Satter, L. D.** 1986. Protein supply from undegraded dietary protein. *J. Dairy Sci.* 69: 2734-2749.

**Satter, L. D. & Roffler, R. E.** 1975. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 58: 1219-1237.

**Satter, L. D. & Slyter, L. L.** 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.* 32: 199-208.

**Satter, L. D., Whitlow, L. W., & Beardsley, G. L.** 1979. Resistance of protein to rumen degradation and its significance to the dairy cow. p. 63. In: Proc. Distiller's Feed Research Council.

**Sauvant, D. & Van Milgen, J.** 1994. Dynamic aspects of carbohydrate and protein breakdown and the associated microbial matter synthesis. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 3: 4.

**Schafft, H.** 1983. Untersuchung zur Quantifizierung des Abbaus von Futterprotein in den Vormägen von Milchkühen. Dissertation, Fachbereich Agrarwiss., Universität Göttingen.

**Schelling, G. T. & Byers, F. M.** 1984. Cytosine as a marker for microbial nitrogen leaving the rumen. *Can. J. Anim. Sci.* 64 (Suppl.): 52-53.

**Schelling, G. T., Koenig, S. E., & Jackson, T. C.** 1982. Nucleic acids and purine or pyrimidine bases as markers for protein synthesis in the rumen. In: Protein requirements for cattle. Symposium. (ed.) Owens, F.N. Oklahoma State Univ., Stillwater.

**Schepers, A. J. & Meijer, R. G.** 1998. Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. *J. Dairy Sci.* 81: 579-584.

**Siddons, R. C., Nolan, J. V., Beever, D. E., & MacRae, J. C.** 1985. Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of N. *Br. J. Nutr.* 54: 175-187.

**Simon, O., Munchmeyer, R., Gorsch, R., & Bergner, H.** 1973. Einfluss von Harnstoff, Azetamin und Azetylharnstoff auf die freien Aminosäuren des Blutplasmas und die Aminosäurezusammensetzung der Pansenproteine beim Schaf. *Arch. Tierernähr.* 23: 555-566.

**Smith, R. H.** 1979. Synthesis of microbial nitrogen compounds in the rumen and their subsequent digestion. *J. Anim. Sci.* 49: 1604-1614.

**Smith, R. H., Salter, D. N., Sutton, J. D., & McAllan, A. B.** 1975. Synthesis and digestion of microbial nitrogen compounds and VFA production by the bovine. *Tracer Studies on NonProtein Nitrogen for Ruminants. II. IAEA, Vienna* 81.

**Sniffen, C. J. & Robinson, P. H.** 1987. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. *J. Dairy Sci.* 70: 425-441.

**Sniffen, C. J., Russel, J. R., & Van Soest, P. J.** 1983. The influence of carbon source, nitrogen source and growth factors in rumen microbial growth. p. 26. In: Proc. Cornell Nutr. Conf.

**Soest van, P. J.** 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press. 2nd.

**Song, M. K. & Kennelly, J. J.** 1990. Ruminal fermentation pattern, bacterial population and ruminal degradation of feed ingredients as influenced by ruminal ammonia concentration. *J. Anim. Sci.* 68: 1110-1120.

**Spicer, L. J., Francisco, C. C., Jones, D., & Waldner, D. N.** 2000. Changes in milk urea nitrogen during early lactation in Holstein cows. *Animal Science Research Report 2000*. 169-171.

**Spohr, M. & Wiesner, H. U.** 1991. Monitoring herd health and milk production by means of the extended milk production performance. *Milchpraxis* 29: 231-236.

**Steinwigger, A., Schweiger, P., Gruber, L., Lettner, F., & Schmid, W.** 1998. Einfluss des Fütterungszeitpunktes sowie der Protein- und Energieversorgung auf den Milchharnstoffgehalt. *Agribiological Research* 51: 341-355.

**Stemme, K.** 2002. Untersuchungen zur Kobalt-Versorgung von Milchkühen. Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

**Stern, M. D. & Satter, L. D.** 1982. In vivo estimation of protein degradability in the rumen. In *Protein requirements of cattle: symposium*: 72-80. Owens, F. N. (ed.). Oklahoma State Univ., Misc. Proc. 109.

**Stewart, C. S., Gilmour, J., & McConville, M. L.** 1986. Microbial interactions, manipulation and genetic engineering. Agriculture: new developments and future perspectives in research on rumen function.

**Stokes, S. R., Hoover, W. H., Miller, T. K., & Blauweikel, R.** 1991. Ruminant digestion and microbial utilization of diets varying in type of carbohydrate and protein. *J. Dairy Sci.* 74: 871-881.

**Susmel, P., Spanghero, M., Stefanon, B., & Mills, C. R.** 1995. Nitrogen balance and partitioning of some nitrogen catabolites in milk and urine of lactating cows. *Livest. Prod. Sci.* 44: 207-219.

**Sutton, J. D., Knight, R., McAllan, A. B., & Smith, R. H.** 1983. Digestion and synthesis in the rumen of sheep given diets supplemented with free and protected oils. *Br. J. Nutr.* 49: 419-432.

**Tamminga, S.** 1978. Measurement of microbial protein synthesis in the rumen. p. 5. In: *Ruminant digestion and feed evaluation*. Osbourne, D.F., Beever, D.E., Thomson, D.J. (eds.). Agricultural Research Council. London, UK.

**Tamminga, S., van der Koelen, C. J., & Van Vuuren, A. M.** 1979. Effect of the level of feed intake on nitrogen entering the small intestine of dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 6: 255-262.

**Tamminga, S., Van Straalen, W. M., Subnel, A. P. J., Meijer, R. G. M., Wever, C. J. G., & Blok, M. C.** 1994. The dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. *Livest. Prod. Sci.* 40: 139-155.

**Teller, E. & Godeau, J. M.** 1984. The association of maize silage with urea: the effect on the ammonia content of the rumen fluid, the N flow in the duodenum, the nitrogen and energy balances and the milk production. *Arch. Tierernähr.* 34: 227-235.

**Theurer, C. B.** 1982. Microbial protein estimation using DAP, EAP and other amino acids as markers. In *Protein requirements for cattle, symposium*: Owens, F. N. (ed.). Oklahoma State Univ., Stillwater.

**Thornton, R. F.** 1970. Urea excretion in ruminants 1. Studies in sheep and cattle offered the same diet. *Austr. J. Agric. Res.* 21: 323.

**Ulyatt, M. J., MacRae, J. C., Clarke, R. T. J., & Pearce, P. D.** 1975. Quantitative digestion of fresh herbage by sheep. 4. Protein synthesis in the stomach. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 84: 453.

**Veira, D. M. & Ivan, M.** 1982. The effect of dietary protein on digestion and fermentation in the gastrointestinal tract of sheep. *Ann. Rech. Vet.* 13: 213-221.

**Veira, D. M., Macleod, G. K., Burton, J. H., & Stone, J. B.** 1980. Nutrition of the weaned Holstein calf. I. Effect of dietary protein level on rumen metabolism. *J. Anim. Sci.* 50: 937-944.

**Vercoe, J. E.** 1969. The transfer of nitrogen from the blood to the rumen in cattle. *Austr. J. Agric. Res.* 20: 191.

**Verité, R., Journet, M., & Jarrige, R.** 1979. A new system for protein feeding of ruminant. *Livest. Prod. Sci.* 6: 349-367.

**Verité, R., Retif, S., & Faverdin, P.** 1996. Milk urea as an index for nutritive protein balance and urinary N excretion in dairy cows on conserved diets. *VII. Symposium on protein metabolism and nutrition, EAAP Publication* 81: 277.

**Virtanen, A. I.** 1966. Milk production of cows on protein-free feed. *Science* 153: 1603.

**Voigt, J. & Piatkowski, B.** 1987. Ruminant protein degradation and protein value of feeds. *Arch. Anim. Nutr.* 37: 63-68.

**Voigt, J. & Steger, H.** 1967. Zur quantitativen Bestimmung von Ammoniak, Harnstoff und Ketonkörpern in biologischem Material mit Hilfe eines modifizierten Mikrodiffusionsgefäßes. *Arch. Tierernährung* 17: 289-293.

**Walker, C. K. & Elliot, J. M.** 1972. Lactational trends in Vitamin B12 status on conventional and restricted-roughage rations. *J. Dairy Sci.* 55: 474-479.

**Whanger, P. D., Weswig, P. H., & Oldfield, J. E.** 1978. Selenium, sulfur and nitrogen levels in ovine rumen microorganisms. *J. Dairy Sci.* 46: 515-519.

**Williams, V. J. & Moir, R. J.** 1951. Ruminant flora studies in sheep. III. The influence of different sources of nitrogen upon nitrogen retention. *Austr. J. Sci. Res.* B4: 337.

**Wright, T. C., Moscardini, S., Luimes, P. H., Susmel, P., & McBride, B. W.** 1998. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on nitrogen balance and milk protein production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81: 784-793.

**Wu, Z. & Satter, L. D.** 2000. Milk production during the complete lactation of dairy cows fed diets containing different amounts of protein. *J. Dairy Sci.* 83: 1042-1051.

**Zinn, R. A., Alvarez, E., Mendez, M., Montano, M., Ramirez, E., & Shen, Y.** 1997. Influence of dieting sulfur level on growth performance and digestive function in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 75: 1723-1728.

**Zinn, R. A., Bull, L. S., & Hemken, R. W.** 1981. Degradation of supplemental proteins in the rumen. *J. Anim. Sci.* 52: 857-866.

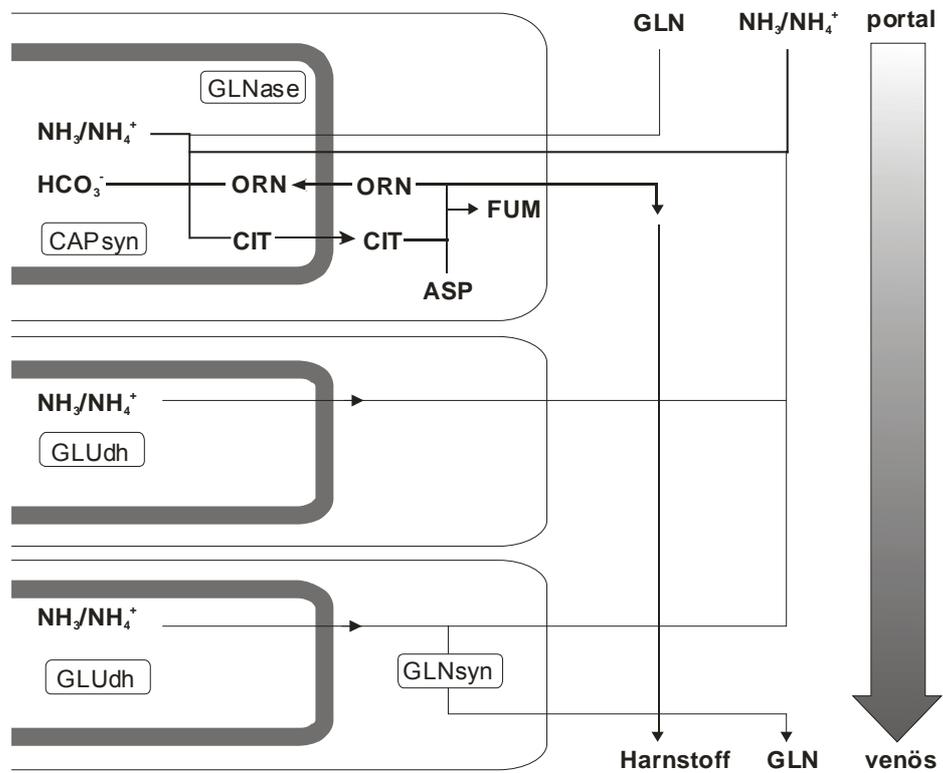
**Zinn, R. A. & Owens, F. N.** 1983a. Influence of feed intake level on site of digestion in steers fed high concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 56: 471-475.

**Zinn, R. A. & Owens, F. N.** 1983b. Site of protein digestion in steers: Predictability.  
*J. Anim. Sci.* 56(b): 707-716.

## 10. ANHANG

Anhang 1:	Harnstoffzyklus (nach ENGELHARDT & BREVES 2000)	150
Anhang 2:	Zusammensetzung der Borsäure (NH <sub>3</sub> -Bestimmung im Pansensaft) nach VOIGT und STEGER (1967)	150
Anhang 3:	Zusammensetzung der Vitamin- und Mineralstoffmischung für Milchkühe	151
Anhang 4:	Einzeltiergewichte am Anfang und Ende des Versuches	151
Anhang 5:	Schwefelgehalte	152
Anhang 6:	Bedarfsdeckung der Einzeltiere mit NEL (in % der Deckung des Bedarfes) in den Versorgungsstufen	152
Anhang 7:	Bedarfsdeckung der Einzeltiere mit nXP (in % der Deckung des Bedarfes) in den Versorgungsstufen	152
Anhang 8:	Rückwaagen mit Trockensubstanz- und Roh Nährstoffgehalten	153
Anhang 9:	Zeitlicher Verlauf der im Pansen von fistulierten Milchkühen (n=4) untersuchten Parameter bei unterschiedlicher ruminale Stickstoffbilanz (1.pH-Wert und 2.NH <sub>3</sub> -N-Konzentration)	154
Anhang 10:	Ammoniak-N-Konzentration im frischen Darmchymus	155
Anhang 11:	Blut- und Milchwahnstoff-N-Gehalte in den vier Versorgungsstufen sowie die ruminale N-Bilanz in g/Tag	155
Anhang 12:	Mittlere Flüsse am Duodenum	156
Anhang 13:	Flüsse an Trockensubstanz, organischer Substanz, mikrobiellem Protein und nXP sowie die „geflossene“ RNB bei den einzelnen Tieren	157

Anhang 1: Harnstoffzyklus (nach ENGELHARDT & BREVES 2000)



Anhang 2: Zusammensetzung der Borsäure ( $\text{NH}_3$ -Bestimmung im Pansensaft) nach VOIGT und STEGER (1967)

Chemikalien	Menge
$\text{H}_3\text{BO}_3$	5000 mg
Äthylalkohol	200 ml
Bromkresolgrün	3,3 mg
Methylrot	6,6 mg
Alkohol	10 ml
$\text{H}_2\text{O}$ bidest	ad 1000 ml

### Anhang 3: Zusammensetzung der Vitamin-Mineralstoffmischung für Milchkühe

CIMBRIA 1101 ADE Super 5-Mineralfutter für Milchkühe, Inhaltsstoffe (je kg), Fütterung 200 g je Tier und Tag

Calcium:	175 g
Natrium:	100 g
Phosphor:	50 g
Magnesium:	30 g
Eisen:	1,5 g
Mangan:	2 g
Zink:	6 g
Kupfer:	1,2 g
Jod:	30 mg
Kobalt:	20 mg
Selen:	40 mg
Vitamin A:	1.000.000 IE
Vitamin D <sub>3</sub> :	100.000 IE
Vitamin E:	2000 IE

### Anhang 4: Einzeltiergewichte zu Beginn und Ende des Versuches

Tiername	Anfangsgewicht (kg)	Endgewicht (kg)
Elschen	583	617
Falke	565	579
Gerri	626	562
Gesche	529	517
Gute	572	564
Rabina	590	537
Reila	470	488

Anhang 5: Schwefelgehalte in der Maissilage und den vier Krafftuttermischungen

Parameter	Maissilage	Krafftuttermischung			
		I	II	III	IV
S in % T	0,11 ±0,003	0,21 ±0,004	0,20 ±0,001	0,18±0,003	0,19 ±0,003

Anhang 6: Bedarfsdeckung der Einzeltiere mit NEL (in % der Deckung des Bedarfes) in den Versorgungsstufen

Tiername	-0.6	-0.3	0	+0.3
Elschen	115	ausgefallen	91	112
Falke	100	115	110	118
Gerri	103	ausgefallen	75	84
Gesche	114	90	121	76
Gute	113	93	109	100
Reila	109	130	125	90
Rabina	107	94	77	58

Anhang 7: Bedarfsdeckung der Einzeltiere mit nXP (in % der Deckung des Bedarfes) in den Versorgungsstufen

Tiername	-0.6	-0.3	0	+0.3
Elschen	112	ausgefallen	102	108
Falke	111	116	107	101
Gerri	115	ausgefallen	98	101
Gesche	117	94	121	97
Gute	1119	106	112	100
Reila	108	112	104	105
Rabina	119	102	86	73

Anhang 8: Rückwaagen mit Trockensubstanz- und Rohnährstoffgehalten

Periode	Behandlg.	Tier	T (kg)	OS (kg)	XL % T	XF % T	XP % T
1	-0.6	Falke	1,3	1,3	2,6	21,0	9,0
1	+0.3	Reila	0,4	0,4	2,8	19,6	9,9
2	-0.3	Falke	1,0	0,9	2,2	14,1	9,9
4	-0.6	Rabina	0,4	0,4	2,9	22,9	9,0
4	0	Gesche	1,4	1,3	2,5	16,3	10,2

Anhang 9: Zeitlicher Verlauf der im Pansen von fistulierten Milchkühen (n=4) untersuchten Parameter bei unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanz

1.pH-Werte

Minuten nach Beginn der Fütterung	Behandlungen			
	-0.6	-0.3	0	+0.3
30	6,62 ±0,12	6,71 ±0,21	6,62 ±0,05	6,52 ±0,20
60	6,60 ±0,03	6,61 ±0,29	6,62 ±0,10	6,62 ±0,17
90	6,37 ±0,33	6,56 ±0,21	6,53 ±0,15	6,71 ±0,13
120	6,46 ±0,27	6,39 ±0,19	6,56 ±0,13	6,79 ±0,15
180	6,30 ±0,21	6,34 ±0,17	6,48 ±0,13	6,46 ±0,22
300	6,05 ±0,47	6,33 ±0,31	6,30 ±0,31	6,38 ±0,40

2.NH<sub>3</sub>-N (mg/100ml)

Minuten nach Beginn der Fütterung	Behandlungen			
	-0.6	-0.3	0	+0.3
30	4,70 ±3,31	15,90 ±2,37	14,39 ±6,75	16,35 ±3,94
60	5,50 ±2,40	18,05 ±3,80	19,31 ±7,96	22,73 ±3,20
90	4,53 ±3,17	13,73 ±4,39	18,87 ±7,93	28,35 ±1,72
120	2,75 ±2,43	11,13 ±4,40	15,05 ±6,77	23,85 ±6,26
180	1,60 ±0,75	5,00 ±4,04	12,86 ±7,65	28,50 ±3,81
300	1,60 ±1,02	4,43 ±3,84	7,92 ±7,57	22,53 ±6,83

Anhang 10: Ammoniak-N-Konzentration im frischen Darmchymus

Behandlung	-0.6	-0.3	0	+0.3
NH <sub>3</sub> -N (mmol/l)	2,1 <sup>c</sup> ±0,3	4,4 <sup>b</sup> ±0,6	5,7 <sup>b</sup> ±1,4	8,1 <sup>a</sup> ±0,6

Anhang 11: Blut- und Milchwahnstoff-N-Gehalte in den vier Versorgungsstufen sowie die ruminale N-Bilanz in g/Tag

Behandlung	-0.6	-0.3	0	+0.3
Blutwahnstoff-N-Gehalt (mmol/l)	1,03 <sup>D</sup> ±0,32	2,57 <sup>C</sup> ±0,74	5,34 <sup>B</sup> ±1,25	7,87 <sup>A</sup> ±1,32
Milchwahnstoff-N-Gehalt (mmol/l)	1,14 <sup>c</sup> ±0,56	1,70 <sup>c</sup> ±0,99	3,61 <sup>b</sup> ±0,94	5,41 <sup>a</sup> ±0,45
Milchwahnstoff-N-Gehalte (mg/kg M.)	68,5 ±33,7	102,2 ±59,3	216,6 ±65,5	324,9 ±62,4
RNB (g/Tag)	-100	-51	+1	+52

Anhang 12: Mittlere Flüsse am Duodenum

Flussmengen a. Duodenum	Futtergruppen			
	-0.6	-0.3	0	+0.3
OM-Fluss (% d. OM-Aufn.)	52,13 ±2,91	51,28 ±3,63	50,19 ±2,47	50,60 ±3,04
Verdaulichkeit d. OM (%)	47,87 ±2,91	48,72 ±3,63	49,81 ±2,47	49,40 ±3,04
DM-Verdaulichkeit (%)	40,02 ±3,27	41,23 ±4,11	42,34 ±3,18	42,25 ±3,54
N-Duod./ N-Aufnahme (%)	127,84 ±13,74	115,01 ±10,40	113,50 ±11,63	94,64 ±10,32
NAN i. D. (g/d)	302,1 ±34,92	318,01 ±39,14	364,87 ±41,74	337,34 ±36,96
% MN/ NAN	70,83 ±1,86	68,00 ±1,10	68,09 ±0,71	68,29 ±1,57
MN i. D. (g/d)	213,73 ±22,86	216,02 ±24,05	248,26 ±29,44	230,59 ±27,82
MP i. D. (g/d)	1335,81 ±142,85	1350,13 ±150,34	1551,63 ±184,01	1441,18 ±173,90
FOM (kg/d)	9,34 ±0,59	9,43 ±0,70	10,13 ±0,51	9,86 ±0,49
MN /FOM (g/kg <sup>9</sup> )	22,95 ±2,13	22,96 ±1,32	24,48 ±2,18	23,49 ±2,36
MP/FOM (g/kg)	143,43 ±13,32	143,48 ±8,28	152,98 ±13,63	146,83 ±14,76
MN/ME (g/MJ)	1,23 ±0,12	1,25 ±0,14	1,41 ±0,13	1,32 ±0,14
MP/ME (g/MJ)	7,66 ±0,78	7,84 ±0,85	8,82 ±0,82	8,25 ±0,85
nXP (g/d)	1686,49 ±215,21	1791,54 ±254,05	2083,55 ±249,92	1890,86 ±219,70
UDP (g/d)	350,67 ±82,04	441,41 ±106,25	531,91 ±70,09	469,99 ±60,08

Anhang 13: Flüsse an Trockensubstanz, organischer Substanz, mikrobiellem Protein und nXP sowie die „geflossene“ RNB bei den einzelnen Tieren

Behandlg.	Periode	Tier	Trocken-Substanz-Fluss (kg)	MP-Fluss (kg)	nXP-Fluss (kg)	“tatsächliche” RNB (g/MJ ME)
-0.6	1	Falke	8,6	1,4	1,8	-0,59
-0.6	2	Reila	8,9	1,4	1,7	-0,63
-0.6	2	Elschen	8,2	1,1	1,3	-0,63
-0.6	2	Gute	9,6	1,2	1,5	-0,63
-0.6	3	Gerri	9,5	1,3	1,8	-0,63
-0.6	3	Gesche	8,8	1,5	1,9	-0,63
-0.6	4	Rabina	9,2	1,4	1,9	-0,70
-0.3	1	Gute	9,8	1,2	1,6	-0,40
-0.3	2	Falke	8,1	1,3	1,7	-0,38
-0.3	2	Gesche	8,8	1,2	1,6	-0,40
-0.3	3	Reila	8,1	1,6	2,2	-0,32
-0.3	3	Rabina	8,7	1,4	1,9	-0,32
0	1	Gerri	8,1	1,4	1,9	-0,13
0	1	Elschen	8,5	1,4	1,9	-0,13
0	2	Rabina	8,0	1,4	1,8	-0,11
0	3	Falke	8,6	1,5	2,1	-0,05
0	3	Gute	9,5	1,6	2,1	-0,18
0	4	Reila	9,5	1,8	2,5	-0,15
0	4	Gesche	9,1	1,8	2,4	-0,12
+0.3	1	Reila	8,3	1,3	1,8	0,15
+0.3	1	Gesche	8,2	1,6	2,1	0,13
+0.3	1	Rabina	8,9	1,4	1,9	0,13
+0.3	2	Gerri	8,3	1,1	1,5	0,22
+0.3	3	Elschen	8,0	1,4	1,8	0,22
+0.3	4	Gute	10,2	1,7	2,1	0,08
+0.3	4	Falke	9,5	1,6	2,1	0,08

## **DANKSAGUNG**

Ich danke den Herren Prof. Dr. J. Kamphues und Prof. Dr. G. Flachowsky für die Überlassung des Themas und die gewährten Arbeitsmöglichkeiten am Institut für Tierernährung der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) in Braunschweig sowie für die Betreuung der Arbeit in Braunschweig und Hannover. Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Dr. P. Lebzien für die große Unterstützung bei der Planung, Durchführung und Auswertung der Versuche. Die geduldigen Erklärungen, Hinweise und hilfreichen Tipps haben wesentlich zum Gelingen der vorliegenden Arbeit beigetragen.

Ein großes Dankeschön gilt allen, die die Tiere versorgt und betreut und mir jederzeit hilfreich zur Seite gestanden haben. Den Mitarbeiter/innen im Labor des Instituts für Tierernährung in Braunschweig danke ich für Ihre stete Hilfsbereitschaft bei den umfangreichen und oft ganz eiligen Analysen.

Bei Herrn Dr. H. Böhme möchte ich mich für die Hilfe bei der Erstellung der verschiedenen englischen Abstracts und der englischen Zusammenfassung bedanken. Für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse danke ich Herr D.-D. Strauß. Sabina Hartinger danke ich für die „computergestützte“ Hilfe und der Hilfe bei einigen Abbildungen.

Weiterhin gilt mein Dank allen Mitarbeitern und Doktoranden, die mir während der Darmsaftsammlung geholfen haben. Für die aufmunternden Worte und Pausen bin ich Tanja, Kristin, Silke und allen Doktoranden sehr dankbar.

Meiner Familie danke ich für die Liebe, Unterstützung und das Verständnis. Ohne die selbstverständliche Zuversicht meiner Kinder Lea, Rana und Kira in das Gelingen dieser Arbeit hätte ich vielleicht an manchen Stellen aufgeben wollen.

Schließlich möchte ich meinen Freunden danken, die einfach da waren und immer mal wieder für Abwechslung gesorgt haben.

Der H. WILHELM SCHAUMANN-Stiftung danke ich für die finanzielle Unterstützung der Arbeit.