

Bewertung von thermisch behandelten Lupinen als Rationskomponente für Hochleistungskühe

Holger Kluth¹, Jeannette Boguhn¹, Thomas Engelhard², Michael Bulang¹ und Markus Rodehutschord¹

¹Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Halle-Wittenberg, Emil-Abderhalden-Straße 26, 06108 Halle (Saale)

²Landesanstalt für Landwirtschaft und Gartenbau, Zentrum für Tierhaltung und Technik Iden, Lindenstraße 18, 39606 Iden

Zusammenfassung

Ziel der Untersuchung war es, die Eignung von thermisch behandelten Lupinen (TBL) als Komponente für Milchkurrationen mit komplementären methodischen Ansätzen zu beurteilen.

Im Rahmen eines Fütterungsversuches wurden 3 TMR bei gleich bleibendem Grundfutteranteil mit variierenden Hauptproteinträgern eingesetzt (166 g nXP/kg T, 7,2 MJ NEL/kg T). Dies waren in einer TMR ausschließlich TBL, des Weiteren eine Kombination aus Rapsextraktionsschrot (RES) und TBL sowie RES und Sojaextraktionsschrot (SES). Auf Basis der standardisierten Verdaulichkeitsbestimmung wurden für diese drei Einzelkomponenten NEL-Gehalte von 9,1 (TBL), 7,0 (RES) und 8,4 MJ/kg T (SES) ermittelt. Die kalkulierten Energiegehalte der eingesetzten TMR wurden mit Verdaulichkeitsbestimmungen bestätigt. Unter Einbeziehung der mittels einer chemischen Rohproteinfraktionierung ermittelten Gehalte an unabgebautem Rohprotein ergaben sich Werte für den Gehalt an nutzbarem Rohprotein (nXP) von 268 (TBL), 314 (RES) und 272 g/kg T (SES).

Der Versuchszeitraum umfasste zwei Abschnitte von 42 bzw. 49 Tagen. Bei hohem Einsatz der TBL (4 kg/Tier und Tag) war der Futtermittelverzehr mit 21,2 kg T/Tag (1. Abschnitt) und 21,9 kg T/Tag (2. Abschnitt) signifikant niedriger als bei den TMR mit TBL+RES (22,9 und 23,5 kg T/Tag) sowie RES+SES (22,2 und 24,7 kg T/Tag). Dies ging mit einer geringeren Milchleistung einher. Die Kombination von TBL mit RES erwies sich im Hinblick auf Futtermittelverzehr und Milchleistung im Grundsatz als gleichwertig, wobei in Milchleistung bei TBL+RES in Abschnitt 1 signifikant höher und in Abschnitt 2 signifikant geringer war. Bei Behandlung TBL+RES war allerdings in Abschnitt 1 der Eiweißgehalt der Milch signifikant geringer.

Der aus *in vitro*-Untersuchungen (RUSITEC) ermittelte ruminale Abbau der organischen Substanz unterschied sich nicht zwischen den TMR und betrug im Mittel

35%. Für die TMR mit RES+SES wurde die höchste Effizienz in der mikrobiellen Proteinsynthese mit 195 g/kg abgebaute organische Substanz bzw. 10,1 g/MJ ME ermittelt. Bei Einsatz von TBL war die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese *in vitro* geringer. Die Aminosäurezusammensetzung des gebildeten mikrobiellen Proteins zwischen den TMR blieb weitgehend unverändert.

Das geschätzte Potenzial der Gasbildung (Hohenheimer Futterwerttest) lag für alle TMR auf einem vergleichbaren Niveau von 63-65 mL/200 mg T. Die maximale Gasbildungsrate von etwa 2,8 mL/h für die drei TMR wurde für die TMR TBL+RES 0,7 h später erreicht als für die TMR RES+SES (5,0 vs. 5,7 h). Die thermisch behandelte Lupine wies mit einem geschätzten Plateau von 64 mL/200 mg T die höchste, das RES mit 47 mL/200 mg T die niedrigste Gasbildung auf.

Es wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass die Kombination aus behandelten Lupinen und Rapsextraktionsschrot für Hochleistungsrationen geeignet ist. Unterschiede im Eiweißgehalt der Milch könnten durch eine veränderte Effizienz der mikrobiellen Synthese im Pansen bedingt sein. Die negativen Wirkungen der sehr hohen Rationsanteile dieses Lupinenproduktes auf die Kuh und die Pansenmikroben bedürfen der weiteren Klärung.

Summary

Evaluation of thermally treated lupins as feed for high yielding dairy cows

It was the objective to study the effects of including thermally treated lupins (TBL) in rations for high yielding dairy cows with different experimental approaches.

In a feeding trial with dairy cows, 3 total mixed rations (TMR) including the same roughages but varying in the inclusion of the main protein sources were used: TBL alone or a combination of rapeseed meal (RES) with either TBL or soybean meal (SES). Based on a standard digestibility study with sheep, the content of net energy for lactation (NEL) in the protein sources was 9.1 (TBL), 7.0 (RES) and 8.4 MJ/kg DM (SES). The intended NEL concentrations for the 3 TMR were confirmed on the basis of digestibility measures (7.2 MJ NEL/kg DM). Estimated on the basis of a chemical crude protein fractionation, the content of utilisable protein at the duodenum (nXP) in the protein sources was 268 (TBL), 314 (RES) and 272 g/kg DM (SES).

The feeding trial had 2 periods of 42 and 49 days. At very high intake of TBL (4 kg/cow and d) the feed intake was 21.2 kg DM/d (period 1) and 21.9 kg DM/d (period 2). This was significantly lower than the feed intake in treatment TBL+RES (22.9 and 23.5 kg DM/d) and RES+SES (22.2 and 24.7 kg DM/d). Correspondingly,

milk yield was reduced. The combination of TBL and RES resulted in similar milk yield as the combination of RES and SES.

Degradation of organic matter studied *in vitro* with a rumen simulation technique (RUSITEC) was not different between the 3 TMR. The efficiency of microbial crude protein synthesis was highest for the TMR with RES+SES (195 g/kg degraded organic matter). When TBL was included in the TMR, the *in vitro* efficiency of microbial crude protein synthesis was lower. The amino acid pattern of microbial protein was not different between TMR.

The plateau in gas production studied according to the Hohenheimer Futterwerttest was similar for the 3 TMR (63-65 mL/200 mg DM). The maximal rate of gas production was about 2.8 mL/h for all TMR and was achieved 0.7 h later with the TMR TBL+RES than for the TMR RES+SES (5.0 vs. 5.7 h). Among the 3 protein ingredients, TBL had the highest plateau in gas production (64 mL/200 mg DM) and RES the lowest (47 mL/200 mg DM).

It was concluded, that the combination of thermally treated lupins and rapeseed meal is suitable for inclusion in rations for high yielding dairy cows. Effects of lupin inclusion on milk protein content may be possible due to changes in the efficiency of microbial protein synthesis in the rumen. Further studies are necessary before the negative effects of very high inclusion rates of this lupin product can be explained.

1. Einleitung und Zielsetzung

Die Realisierung hoher Milchleistungen erfordert den gezielten Einsatz von Futtermitteln, die neben der Energieversorgung gleichermaßen den Bedarf der Milchkuh an nutzbarem Rohprotein am Duodenum (nXP) sicherstellen. Dabei setzt sich das nXP aus den Teilgrößen des mikrobiellen Rohproteins (MP) und des unabgebauten Futterrohproteins (UDP) zusammen. Vor allem im Hochleistungsbereich gewinnt der Anteil an UDP an Bedeutung, da durch die Limitierung der Futter- bzw. Energieaufnahme die Synthese an MP begrenzt wird und somit der nXP-Bedarf zunehmend über das UDP abgedeckt werden muss. Im Allgemeinen verfügen die Extraktionsschrote aus Soja- (SES) oder Rapssaat (RES) über relativ hohe Anteile an UDP und besitzen deshalb eine weite Verbreitung in der Milchkuhfütterung. Einheimische Körnerleguminosen hingegen sind in unbehandelter Form durch einen geringen UDP-Anteil charakterisiert. Allerdings ist bekannt, dass durch thermische Behandlungsverfahren der Abbaugrad des Proteins von Leguminosen reduziert und somit der Anteil an UDP erhöht werden kann. Dies eröffnet die Möglichkeit der Berücksichtigung einheimischer, regional produzierter Futtermittel in der Fütterung.

Bei hoher Milchleistung dürfte dies insbesondere für Betriebe des ökologischen Landbaus interessant sein, die auf den Einsatz von Extraktionsschroten verzichten. Bislang wird angenommen, dass die Behandlung der Leguminosen nicht zu einer Veränderung bei der mikrobiellen Neusynthese von Protein führt.

Vor diesem Hintergrund ergab sich die Fragestellung, wie sich ein Ersatz von SES und RES durch behandelte Lupinen in Milchkuhrationen auswirkt. Insbesondere der Einsatz bei einem hohen Leistungsniveau war dabei von Interesse, da hier der Bedarf an Energie und nXP kaum noch zu decken ist und auch die Zusammensetzung des am Dünndarm anflutenden Proteins größere Bedeutung erlangt. Mit *in vitro*-Ansätzen wurde daher auch der Frage nachgegangen, ob sich bei Einsatz der verschiedenen Proteinträger die Effizienz der Synthese von MP und das Aminosäuremuster des MP verändern.

2. Material und Methoden

2.1 Fütterungsversuch mit Milchkühen

Der Fütterungsversuch wurde im Zentrum für Tierhaltung und Technik (ZTT) der Landesanstalt für Landwirtschaft und Gartenbau Sachsen-Anhalt in Iden durchgeführt. Bei den eingesetzten thermisch behandelten Lupinen (TBL) handelte es sich um das Produkt „Lupitherm“ (Börde-Kraftkorn-GmbH), für das vom Hersteller eine UDP-Anteil von 46% deklariert wird. Bei den Extraktionsschroten handelte es sich um übliche Handelsware.

Für den Versuch wurden drei Mischrationen (TMR) mit weitgehend gleichen Anteilen von Grundfutterkomponenten (Grasanwelk-, Mais-, Lieschkolbenschrot-, Pressschnitzel- und Biertreibersilage) kalkuliert (Tabelle 1). In einer der Behandlungen stellte TBL den alleinigen Hauptproteinträger dar. In einer weiteren Behandlung wurde TBL in einer Mischung mit RES eingesetzt. Die dritte Behandlung war eine Mischung aus RES und SES, die sich in vorangegangenen Versuchen gut bewährt hatte. Die kalkulierten Gehalte an nXP und NEL betragen mindestens 166 g/kg T und 7,2 MJ/kg T. Die Erfassung der tierindividuellen Futteraufnahme war durch Einzelwiegetröge gewährleistet.

Die Aufteilung der Tiere in die 3 Behandlungen erfolgte nach den Kriterien Laktationsnummer, Vorlaktationsleistung, Fett- und Eiweißmenge sowie Lebendmasse. Je Behandlung wurden 24 Tiere aufgestellt, die im Mittel den 90. Laktationstag aufwiesen. Bei Tierausfall wurde ein Tier mit vergleichbarer Leistung und ähnlichem Laktationstag nachgestellt. Der Versuch umfasste einen Zeitraum von

insgesamt 91 Tagen. Nach einer ersten Phase von 42 Tagen wurde ein Wechsel zwischen den Behandlungen vorgenommen. Die Umstellung zwischen den Versuchsgruppen zwischen den Rationen erfolgte von TBL auf TBL+RES, von TBL+RES auf SES+RES sowie von SES+RES auf TBL (Tabelle 1). Die zweite Phase wurde nach 49 Tagen mit dem Versuchsende abgeschlossen.

Die Tiere wurden unter üblichen Laufstallbedingungen gehalten und dreimal täglich gemolken. Die Milchmengenmessung erfolgte kontinuierlich über das System Flo-Master-Pro der Firma DeLaval. Während der wöchentlichen Milchkontrolle wurden Milchfett, -eiweiß und -harnstoff fotooptisch anhand des Milcoscan-Verfahren (Foss Elektrik, Hamburg) ermittelt.

In den Grundfuttermitteln erfolgten täglich eine Trockenmassebestimmung sowie wöchentlich eine Rohnährstoffanalyse. Bei den Konzentratfuttermitteln wurde monatlich eine Rohnährstoffanalyse durchgeführt. Mit jeweils 3 Chargen wurde die chemische Rohproteinfraktionierung nach SHANNAK et al. (2000) zur Schätzung des UDP-Anteils vorgenommen.

Tabelle 1: Zusammensetzung und kalkulierte Gehalte in den Rationen

Versuchsgruppe Ration	Abschnitt 1			Abschnitt 2		
	1 TBL	2 TBL + RES	3 RES + SES	3 TBL	1 TBL + RES	2 RES + SES
Futtermittel	% der T					
Maissilage	35,7	35,8	36,7	39,3	38,6	39,2
Grasanwelksilage	18,5	18,6	18,6	15,9	15,9	16,1
Stroh	-	-	-	1,6	1,5	1,8
Biertrebersilage	6,5	6,1	5,9	6,1	5,8	5,6
Gerste, gequetscht	16,6	16,4	16,9	15,7	15,9	16,1
Lupine ¹	18,8	11,0	-	18,3	10,9	-
SES	-	-	9,7	-	-	8,4
RES	-	8,3	8,3	-	8,4	9,8
Rest ²	3,8	3,7	3,8	3,1	3,0	3,0
NEL, MJ/kg T	7,4	7,3	7,2	7,4	7,3	7,2
nXP, g/kg T	166	170	170	166	171	172
RNB, g/kg T	0,5	0,3	1,8	0,1	-0,2	1,6
XF, g/kg T	163	160	153	157	154	147

¹ thermisch behandelt, 46% UDP laut Herstellerangaben

² Mineralstoffmischung, Propylenglykol, geschütztes Fett, Futterkalk, Viehsalz

Die Alkaloidanalyse wurde nach vorangegangener Flüssig-Fest-Extraktion mittels Kapillar-Gaschromatographie in Anlehnung an die Methoden von WINK (1987; 1992) durchgeführt. Lupanin stellt das Hauptalkaloid dar. Angustifolin, Isolupanin und 13-Hydroxylupanin sind ebenfalls im Messwert enthalten.

Die statistische Auswertung erfolgte für beide Versuchsabschnitte separat. Für die untersuchten Merkmale wurden entsprechend der Datenstruktur und Merkmalspezifik differenzierte Auswertungsmodelle verwendet. In jedem Fall war ein komplexes statistisches Modell zu berücksichtigen, da neben den interessierenden festen Effekten (Proteinträger) mehrere Einflussgrößen zu berücksichtigen waren [Laktationsnummer (fest), Testtag (fest), Laktationstag (fest) sowie wiederholte Leistungen (zufällig)].

Für die Merkmale Milchmenge und energiekorrigierte Milch erwies sich der Einfluss der Testtage als bedeutsam. Entsprechend war für den Versuch das folgende gemischte lineare Modell (Testtagsmodell) zu bearbeiten:

$$y_{ijkln} = \mu + R_i + LNR_j + T_k + \sum_{m=1}^4 \beta_{jm} * x_m + Tier_l + e_{ijkln} \quad (1)$$

μ = allgemeines Mittel

(R) Ration_i = fester Effekt der i-ten Ration

(LNR) Laktationsnummer_j = fester Effekt der j-ten Laktationsnummer

(T) Testtag_k = fester Effekt des k-ten Testtags

β_{jm} = Regressionskoeffizienten innerhalb der j-ten Laktation

x_m = Kovariablen (x_1 =Laktationstag/305; $x_2=x_1^2$; $x_3=\ln(305/\text{Laktationstag})$; $x_4=x_3^2$)

Tier_l = zufälliger Effekt des l-ten Tier, $Tier_l \sim N(0; \sigma_{Tier}^2)$

e_{ijkln} = zufälliger Resteffekt, Resteffekt $e_{ijkln} \sim N(0; \sigma_{Rest}^2)$.

Die durch die Laktationstage entstehende Dynamik wurde innerhalb der Laktationsnummer durch die Kovariablen in Abhängigkeit vom Laktationstag modelliert (ALI und SCHAEFFER, 1987). Die rechentechnische Bearbeitung erfolgte mit der SAS-Prozedur MIXED bei Nutzung der Methode REML für die Varianzkomponentenschätzung und der Freiheitsgradapproximation nach KENWARD und ROGER (1997). Bei unbalancierten Daten in gemischten Modellen haben sich diese Methoden als vorteilhaft erwiesen (SPILKE und TUCHSCHERER, 2001).

Um die natürliche Dynamik auch bei den weiteren untersuchten Merkmalen zu beachten, wurden durch Modifikationen der Kovariablen ($x_1 = LT, x_2 = \sqrt{LT}$) die Merkmale T-, Energie-, nXP- und XP-Aufnahme ebenfalls mit Modell (1) bearbeitet.

Die Parameter Milchharnstoffgehalt und die Gehalte an Fett und Eiweiß unterlagen im Versuch keiner typischen Dynamik. Wegen des konstanten Verlaufes der betrachteten Parameter und des Fehlens einer Dynamik in Abhängigkeit vom Laktationstag wurden diese Merkmale ohne Kovariable ansonsten jedoch mit dem gleichen Modell (1) betrachtet.

Zur merkmalspezifischen Festlegung der einzubeziehenden Kovariablen wurde das Akaike-Kriterium (AIC) bei gleichzeitiger Nutzung der ML-Methode zur Varianzkomponentenschätzung in SAS genutzt.

Als Entscheidungskriterium für signifikante Unterschiede zwischen den Rationen im jeweils betrachteten Merkmal wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% zugrunde gelegt.

2.2 Verdaulichkeitsbestimmung mit Hammeln

Die standardisierten Verdaulichkeitsbestimmungen nach Vorgaben des AFBN (1991) wurden im Nutztierwissenschaftlichen Zentrum der Martin-Luther-Universität in Merbitz in 2 Durchgängen durchgeführt. Dazu standen 16 Hammel der Rasse Rauhwolliges Pommersches Landschaf zur Verfügung, die für die Dauer des Versuches in Einzelkäfigen mit einer Grundfläche von ca. 1,5 x 1,0 m gehalten wurden.

Die zu prüfenden Futtermittel (3 TMR aus dem Fütterungsversuch und die 3 Proteinträger SES, RES, und TBL) wurden jeweils vor dem Versuchsdurchgang in Höhe der benötigten Tagesration eingewogen und im Fall der TMR bei -18°C, im Fall der Proteinträger bei Zimmertemperatur gelagert. Bei der Einwaage erfolgte die Entnahme repräsentativer Proben zur Analyse.

Im ersten Versuchsdurchgang erfolgte die Prüfung der 3 im Fütterungsversuch verwendeten TMR an jeweils 4 Hammeln, wobei jeweils die Hälfte der täglichen Futtermenge (2000 g Frischsubstanz) gegen 7.00 und 14.00 Uhr verfüttert wurde.

Der zweite Versuchsdurchgang bezog sich auf die Prüfung der Proteinträger und war als Differenzversuch in Verbindung mit Heu angelegt. Dazu bekamen jeweils 4 Tiere 450 g Wiesenheu mittlerer Qualität und 450 g von einem der drei Proteinträger auf 2 gleichgroße Rationen am Tag verteilt vorgelegt. 4 zusätzliche Tiere erhielten nur Wiesenheu (2 mal 450 g pro Tag). Trinkwasser stand ohne Einschränkung zur Verfügung.

Die Phase zur Anpassung an die zu prüfende Ration betrug jeweils 21 Tage. Daran schloss sich direkt eine 7-tägige Sammelperiode an, in der die täglich ausgeschiedene Kotmenge tierindividuell mittels Kotsammelbeutel erfasst wurde. 10% der täglichen Kotmenge wurden für eine Sammelprobe pro Tier entnommen und bei -18°C bis zur

Aufbereitung (Trocknung bei 65°C über 24 h, Vermahlung auf 1 mm Siebdurchgang) und Analyse gelagert.

Die Analyse der Weender Rohnährstoffe und der Detergenzienfasern nach VAN SOEST (1963) in den Futter- und Kotproben wurde im institutseigenen Labor nach den Vorschriften des VDLUFA (NAUMANN und BASSLER, 1976) durchgeführt.

Die Berechnung der Verdaulichkeit der Rohnährstoffe und Detergenzienfasern erfolgte anhand der Differenz zwischen Aufnahme mit dem Futter und Ausscheidung mit dem Kot in Relation zur Aufnahme. Bei der Differenzrechnung wurde die Ausscheidung, die bei alleiniger Fütterung des Heus gemessen wurde, anteilmäßig berücksichtigt. Diese Differenzrechnung wurde nur mit den Mittelwerten und nicht mit Einzeltierdaten vorgenommen. Aus den verdaulichen Rohnährstoffen erfolgte die Berechnung der Umsetzbaren Energie (GFE, 1995) und der Nettoenergie Laktation (VAN ES, 1978).

2.3 *In vitro*-Untersuchungen

2.3.1 Rumen simulation technique (Rusitec, Pansensimulation)

Zum Vergleich des ruminalen Abbaus der Rohnährstoffe und zur Bestimmung der mikrobiellen Syntheseleistung wurde ein semi-kontinuierliches Pansensimulations-System genutzt (CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE, 1977). Es standen 6 Fermenter mit einem Fassungsvermögen von jeweils 800 mL zur Verfügung, die sich in einem auf 39°C temperierten Wasserbad befanden. Die perforierten Innenbehälter, in denen die Futterbeutel platziert wurden, waren über ein Gestänge mit einem Elektromotor verbunden. Mit einer Frequenz von 10-12 Hüben pro Minute konnte Pansenmotorik simuliert werden. Die Details der Vorgehensweise bei der Bestimmung der Effizienz der MP-Synthese sind bei BOGUHN et al. (2006) beschrieben.

Die Futterbeutel mit einer Porengröße von 100 µm enthielten jeweils 15 g der luft-trockenen, auf 1 mm Siebdurchgang vermahlenden Substanz der 3 im Fütterungs-versuch verwendeten TMR. Es wurden zeitgleich jeweils zwei Futterbeutel pro Fermenter inkubiert, wobei täglich ein Futterbeutel durch einen neuen ersetzt wurde. Jeder Futterbeutel verblieb somit 48 h im System. Die entnommenen Futterbeutel wurden jeweils in 2 x 40 mL der verwendeten Pufferlösung gespült, bei 65°C innerhalb von 24 h getrocknet und nach dem Abkühlen zurück gewogen. Die Spülflüssigkeit wurde in den jeweiligen Fermenter zurückgegeben.

Die Zuführung der Pufferlösung (MCDUGALL, 1948) erfolgte kontinuierlich mit einer Dosierpumpe in einem Volumen von ~600 mL pro Fermenter und Tag. Zur Markierung des Pools von Ammonium-N wurde der Pufferlösung mit ¹⁵N angereichertes Ammoniumchlorid in einer Dosierung von 0,7 mmol NH₄⁺/L zugesetzt.

Der anfallende Überlauf aus den Fermentern wurde in Glasgefäßen aufgefangen, die in einem eiskaltem Wasserbad standen, um die mikrobielle Aktivität zu unterbinden. 320 mL des Überlaufes wurden nach den Vorgaben von BRANDT und ROHR (1981) zentrifugiert, um die so genannten Referenzmikroben zu gewinnen. Nach einer zweimaligen Vorzentrifugation bei 2000 g für 5 min bei 4°C zur Abtrennung von feinen Futterpartikeln und Protozoen folgte die Hauptzentrifugation bei 27000 g für 15 min bei 4°C. Dieser Zentrifugationsschritt wurde insgesamt dreimal vorgenommen, der Überstand verworfen und das entstehende Mikrobenpellet mit NaCl-Lösung (0,9%) gespült. Nach der letzten Hauptzentrifugation wurden die Mikrobenpellets bei -18°C bis zur Gefriertrocknung und Vermahlung gelagert.

In den zwei durchgeführten Teilversuchen wurden jeweils 2 Fermenter pro TMR geprüft, so dass insgesamt 4 Wiederholungen pro TMR zur Auswertung kamen. Einer 7-tägigen Anpassungsphase folgte jeweils eine 8-tägige Sammelperiode. Die Proben des Futterrestes, des Überlaufes nach der ersten Hauptzentrifugation und der Referenzmikroben wurden von Tag 7 bis 15 gesammelt und pro Fermenter gepoolt analysiert. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die durchgeführten Analysen.

Tabelle 2: Übersicht der Analysen in den gesammelten Proben aus dem Rusitec

Probe	Analysen
Futter	Weender Roh Nährstoffe, Detergenzienfasern, ¹⁵ N
Futterrest	Weender Roh Nährstoffe, Detergenzienfasern, ¹⁵ N
Referenzmikroben	N, ¹⁵ N, Aminosäuren
Überlauf	N, ¹⁵ N
NH ₄ Cl	¹⁵ N

Die Analyse der Weender Roh Nährstoffe und der Detergenzienfasern folgte den Methoden des VDLUFA (NAUMANN und BASSLER, 1976). Die N-Konzentrationen in den Referenzmikroben und die ¹⁵N-Gehalte wurden mit einem Elementaranalysator (vario EL, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau) bestimmt, der mit einem Emissionsspektrometer (NOI 7, Fischer Analysen Instrumente GmbH, Leipzig) gekoppelt war. Die Bestimmung der Aminosäuregehalte in den Referenzmikroben erfolgte nach Oxidation und saurer Hydrolyse mittels Ninhydrin an einem Aminosäureanalysator gemäß der für Futtermittel etablierten und mit den laborspezifischen Details bei TIMMLER und RODEHUTSCORD (2003) beschriebenen Methode. Mit dieser Methode können die Aminosäuren Tryptophan, Tyrosin und Histidin nicht bestimmt werden (MASON et al., 1980).

Der Abbau der Rohnährstoffe wurde aus der Differenz zwischen der täglich mit dem Futter zugeführten Nährstoffmenge und der mit dem Futterrest entnommenen Nährstoffmenge in Relation zur zugeführten Nährstoffmenge pro Fermenter berechnet. Die am Futterrest anhaftenden Mikroben blieben in diesem Fall unberücksichtigt.

Die mikrobielle Proteinsynthese wurde kalkuliert nach:

$$MP = \frac{{}^{15}\text{N}_{\text{in}} - {}^{15}\text{N}_{\text{out}}}{{}^{15}\text{N}_{\text{Plateau}}} \cdot 6,25 \quad (2)$$

mit

MP (in g/Tag): Menge an mikrobiellem Rohprotein

${}^{15}\text{N}_{\text{in}}$ (in $\mu\text{g}/\text{Tag}$): ${}^{15}\text{N}$ - Eintrag mit der Pufferlösung

${}^{15}\text{N}_{\text{out}}$ (in $\mu\text{g}/\text{Tag}$): ${}^{15}\text{N}$ - Austrag mit dem Futterrest und dem Überlauf (ohne Referenzmikroben)

${}^{15}\text{N}_{\text{Plateau}}$ (in $\mu\text{g } {}^{15}\text{N}/\text{mg N}$): mittlere ${}^{15}\text{N}$ -Anreicherung in den Referenzmikroben gewonnen an den Tagen 7 -15 nach Infusionsbeginn

6,25: Umrechnungsfaktor von N zu XP.

Die Darstellung der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese erfolgte als g MP je kg abgebaute OS und alternativ je MJ ME (berechnet aus den mit Hammeln bestimmten verdaulichen Rohnährstoffen). Dabei wurde die analysierte OS in den Futterresten um den Anteil der anhaftenden Mikroben wie folgt korrigiert:

$$N_{\text{SAM}} = \frac{{}^{15}\text{N}_{\text{FR}} \times N_{\text{FR}}}{{}^{15}\text{N}_{\text{SAM}}} \quad (3)$$

mit

N_{SAM} (g/Tag): N - Menge der an den Futterresten anhaftenden Mikroben

${}^{15}\text{N}_{\text{FR}}$ (%): ${}^{15}\text{N}$ - Anreicherung der Futterreste

N_{FR} (g/Tag): N - Menge in den Futterresten

${}^{15}\text{N}_{\text{SAM}}$ (%): ${}^{15}\text{N}$ des Gesamt-N der an den Futterresten anhaftenden Mikroben,

$$\text{OS}_{\text{SAM}} = \frac{N_{\text{SAM}}}{N} \times (100 - 12) \times 0,93 \quad (4)$$

mit

OS_{SAM} (g/Tag): organische Substanz der an den Futterresten anhaftenden Mikroben

N_{SAM} (g/Tag): N - Menge der an den Futterresten anhaftenden Mikroben (nach Gleichung 3)

N (%): N - Gehalt der an den Futterresten anhaftenden Mikroben

12%: analysierter Aschegehalt der an den Futterresten anhaftenden Mikroben

0,93: relativer, analysierter Trockensubstanzgehalt der an den Futterresten anhaftenden Mikroben.

Die Gewinnung der an den Futterresten anhaftenden Mikroben erfolgte am letzten Tag der Inkubation nach der Methode von RANILLA und CARRO (2003) in Anlehnung an die Arbeiten von MINATO und SUTO (1978). Dazu wurden am Tag 15 die zwei Futterbeutel pro Fermenter entnommen und in jeweils 240 mL einer Methylcelluloselösung (1 g Methylcellulose + 9 g NaCl/l destilliertes Wasser) bei 39°C für 30 min inkubiert. Nach der Zugabe von 500 mL der auf 4°C gekühlten Methylcelluloselösung wurden die Suspensionen mindestens weitere 6 h im Kühlschrank gelagert, bis die weitere Aufbereitung und Gewinnung der Mikroben analog der beschriebenen Methode bei den Referenzmikroben erfolgte.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Softwarepaket SAS für Windows 9.1 unter Verwendung der Prozedur *glm*. Signifikante Unterschiede wurden im Mittelwertsvergleich mittels t-Test ab einem $P \leq 0,05$ erkannt.

2.3.2 Gasbildung mittels HFT-Anlage

Die Methode zur Bestimmung der Gasbildung durch Inkubation des zu untersuchenden Futters mit einem Gemisch aus nativem Pansensaft und einer Pufferlösung ist als Hohenheimer Futterwerttest bekannt (MENKE et al., 1979). In einem Versuchsdurchgang wurden die drei im Fütterungsversuch verwendeten TMR und die drei Proteinträger untersucht. Dazu wurden jeweils ~200 mg der lufttrockenen, auf 1 mm Siebdurchgang vermahlenden Substanz in die Kolbenprober eingewogen und mit 30 mL der Inkubationslösung (Pufferlösung und nativer Pansensaft im Verhältnis 1:1) versetzt (VDLUFA-Methode 25.1, NAUMANN und BASSLER, 1976). Pro Futtermittel wurden 8 Kolbenprober bestückt. Der Pansensaft war zuvor von 4 pansenfistulierten Hammeln vor der Morgenfütterung gewonnen worden. Die Versuchsdauer betrug 104 h, wobei nach 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 20, 24, 28, 32, 40, 48, 56, 68, 80, 92 und 104 h die Gasbildung erfasst wurde. Die Korrektur der Werte der Gasbildung erfolgte anhand von drei Blindproben unter Berücksichtigung von jeweils drei Proben mit den Standards für Heu und Konzentratfutter. Die mittleren Korrekturfaktoren lagen bei 0,9 für Heu und 1,0 für das Konzentratfutter.

Die graphische Darstellung der kumulativen Gasbildung erfolgte mit der Software GraphPad Prism 4 für Windows unter Nutzung folgender modifizierter Gompertz-Funktion (BEUVINK und KOGUT, 1993):

$$y = b * \exp \left\{ \frac{\mu_{0r}}{D_r} * \exp(-D_r * t) - \frac{\mu_{0s}}{D_s} * \exp(-D_s * t) \right\} \quad (5)$$

b = Gasbildungspotenzial

μ_{0r} = Gasbildungsrate für schnell fermentierbares Substrat je h^{-1}

D_r = Zerfallskonstante für schnell fermentierbares Substrat

μ_{0s} = Gasbildungsrate für langsam fermentierbares Substrat je h^{-1}

D_s = Zerfallskonstante für langsam fermentierbares Substrat

t = Zeit nach Beginn der Inkubation (h).

Dieser sigmoidale Verlauf kann in 3 Phasen unterteilt werden: 1) die Startphase, in der noch keine bzw. nur eine sehr geringe Gasbildung zu erkennen ist (Verzögerungszeit), 2) die exponentielle Phase mit einer ansteigenden Gasbildungsrate bis zum Maximum (Wendepunkt der Funktion) und 3) der asymptotischen Phase, in der die Gasbildungsrate abfällt bis zum Erreichen eines Plateaus (SCHOFIELD, 2000). Neben der hier relevanten Bestimmung der maximalen Gasbildung (b , Plateau) der eingesetzten Futtermittel ist dieses Modell ebenfalls für die Schätzung der schnell und langsam fermentierbaren Bestandteile zum Zeitpunkt t geeignet.

Mit der ersten Ableitung der Funktion kann die maximale Gasbildungsrate am Wendepunkt der Funktion berechnet werden. Notwendige Bedingung ist, dass die zweite Ableitung null ist. Die Verzögerungszeit der Gasbildung ist definiert als der Zeitpunkt, zu dem die am Wendepunkt anliegende Tangente in ihrer Verlängerung die Abszisse schneidet. Die Schätzung der Parameter erfolgte mit dem Softwarepaket SAS für Windows 9.1 unter Verwendung des Makros Nlinmix (LITTELL et al., 1996). Die Lösung basiert auf einer Linearisierung der nichtlinearen Funktion und Erzeugung von Lösungen in der SAS-Prozedur Mixed und darauf folgender Bewertung der Konvergenz der gefundenen Lösungen in der SAS-Prozedur NLIN. Nach iterativer Ermittlung der maximalen Gasbildungsrate zum Zeitpunkt t mit der 1. und 2. Ableitung der Funktion in einem Excel Tabellenblatt und der jeweiligen Gasbildung y für diesen Punkt wurde mit $y = m \times t + n$ der Schnittpunkt mit der Ordinate n berechnet. Der Schnittpunkt der Abszisse bei $y = 0$ wurde kalkuliert durch Nullsetzung der Geradengleichung und Einsetzen des Steigungswertes (m) und des Schnittpunktes der Ordinate (n) in dieselbige.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Verdaulichkeiten und Energiekonzentrationen

Die Rohnährstoffgehalte der geprüften Proteinträger lagen in einem Bereich, wie er in den Futterwerttabellen ausgewiesen wird (Tabelle 3; DLG, 1997). Für die Extraktionsschrote wurde ein geringfügig höherer Rohfasergehalt analysiert. Die Verdaulichkeit der OS für RES lag bei 76%, wogegen SES und TBL zu 90 bzw. 93% verdaulich waren. Noch deutlicher treten die Unterschiede bei den Faserfraktionen zu Tage. So waren die Rohfaser und die NDF mit 43 bzw. 60% aus RES erheblich geringer verdaulich als bei den beiden anderen Proteinträgern.

Tabelle 3: Gehalte an Rohnährstoffen, Detergenzienfasern und Nährstoffverdaulichkeit der Proteinträger (n = 4, Mittelwerte)

Parameter	Futtermittel		
	SES	RES ¹	TBL
Rohnährstoffgehalt, g/kg T			
Organische Substanz	927	919	960
Rohprotein	454	384	363
Rohfett	16	27	45
Rohfaser	94	174	160
NDF	195	320	262
ADF	135	227	211
Verdaulichkeit, %			
Organische Substanz	90	76	93
Rohfett	75	93	86
Rohfaser	81	43	90
NDF	93	60	97
ADF	88	26	93
ME, MJ/kg T	13,5	11,6	14,4
NEL, MJ/kg T	8,4	7,0	9,1
UDP, % XP ²	31	58	37
nXP, g/kg T ³	272	314	268
RNB, g/kg T ⁴	29	11	15

¹ n = 3

² chemische Rohproteinfraktionierung nach SHANNAK et al. (2000) bei einer Passagerate von 8 % je Stunde

³ nXP = [187,7 - (115,4 × (UDP/XP))] × DOS + 1,03 × UDP nach GFE (2001)

⁴ RNB = (XP-Gehalt - nXP-Gehalt) / 6,25 nach GFE (1997)

Die berechneten Energiekonzentrationen lagen für SES, RES und TBL bei 13,5, 11,6 und 14,4 MJ ME/kg T. Diese Werte sind mit Tabellenwerten vergleichbar (DLG, 1997).

NIBBE et al. (2001) untersuchten SES und RES verschiedener Herkünfte und ermittelten Energiegehalte von 13,7 bis 14,1 MJ ME/kg T und 11,8 bis 12,2 MJ ME/kg T. Beide hier geprüften Extraktionsschrote lagen im unteren Bereich dieser Spannen. In diesem Zusammenhang verweisen SPIEKERS et al. (2000) auf den häufig zu hoch bewerteten Energiegehalt von RES heutiger 00-Sorten.

Die chemische Rohproteinfraktionierung der Proteinträger (n=3) ergab für den UDP-Anteil am Rohprotein sehr unterschiedliche Ergebnisse. Während für das RES ein mittlerer Wert des UDP von 58% (56-58%) ermittelt wurde, schwankten die Anteile beim SES (27-37%) und bei TBL (31-41%) um bis zu 10 Prozentpunkte zwischen den einzelnen beprobten Chargen. Im Mittel resultierten für SES 31 und für TBL 37% UDP am Rohprotein. Der vom Hersteller der TBL deklarierte UDP-Anteil von 46% konnte nicht bestätigt werden.

Tabelle 4: Gehalte an Rohnährstoffen, Detergenzienfasern und Nährstoffverdaulichkeit der TMR (n = 4, Mittelwerte und Standardabweichungen)

Parameter	TMR					
	RES+SES		TBL+RES		TBL ¹	
Rohnährstoffgehalt, g/ kg T						
Organische Substanz	932		934		938	
Rohprotein	200		167		160	
Rohfett	35		45		48	
Rohfaser	157		193		191	
NDF	338		374		386	
ADF	178		201		197	
Verdaulichkeit, %						
Organische Substanz	80	0,4	80	0,6	79	1,0
Rohfett	64 ^a	2,5	70 ^b	2,0	76 ^c	1,8
Rohfaser	65 ^a	2,9	72 ^b	2,6	71 ^b	3,2
NDF	66 ^a	1,0	69 ^b	1,6	67 ^{ab}	1,8
ADF	62 ^a	1,5	65 ^{ab}	2,8	66 ^b	2,7
ME, MJ/kg T	11,7	0,06	11,7	0,06	11,7	0,10
NEL, MJ/kg T	7,2	0,05	7,2	0,05	7,2	0,10

¹ n=3

^{a,b,c} kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05)

Die drei TMR unterschieden sich nicht hinsichtlich der Verdaulichkeit der Nährstoffe und der berechneten Energiekonzentrationen (Tabelle 4). Die Verdaulichkeit der OS lag bei etwa 80%. Die TMR mit TBL wies mit 76% eine um 6 Prozentpunkte höhere Fettverdaulichkeit auf. Die Verdaulichkeiten der Rohfaser (65%) und der ADF (62%) der TMR RES+SES waren um etwa 5 Prozentpunkte niedriger als bei den anderen beiden TMR. Insgesamt lagen die Verdaulichkeiten der Rationen auf einem hohen Niveau, was sich auch in der berechneten Energiekonzentration von 11,7 MJ ME/kg T widerspiegelt. Der kalkulierte Gehalt von mindestens 7,2 NEL/kg T konnte für alle TMR bestätigt werden.

3.2 Fütterungsversuch

Kennzeichnend für den Fütterungsversuch war das hohe Leistungsniveau. In beiden Versuchsabschnitten wurden tägliche Milchleistungen von mindestens 35 kg erzielt (Tabelle 5).

Es wurde festgestellt, dass die Tiere, die TBL erhielten, in beiden Versuchsabschnitten die niedrigste Futteraufnahme aufwiesen. Diese war jeweils signifikant niedriger mit 21,2 (1. Abschnitt) und 21,9 kg/Tag (2. Abschnitt) im Vergleich zu den Gruppen mit TBL+RES und RES+SES mit 22,9 und 22,2 kg/Tag (1. Abschnitt) sowie mit 23,5 und 24,7 kg/Tag (2. Abschnitt). Die geringere Futteraufnahme in dieser Gruppe ging einher mit einer niedrigeren Milchleistung. Auf Basis der energiekorrigierten Milch wurde im 1. Abschnitt eine tägliche Menge von 35,3 kg ermittelt, die sich signifikant unterschied zur erzielten Leistung der anderen Gruppen (TBL+RES: 38,1 kg/Tag; RES+SES: 38,0 kg/Tag).

Mit dem Wechsel der TMR zwischen den Gruppen war beim Wechsel von TBL zu TBL+RES ein deutlicher Anstieg in der Futteraufnahme zu verzeichnen. Im Mittel nahmen die Tiere während des zweiten Abschnittes 1,3 kg T/Tag mehr auf. Die höchste Futteraufnahme im gesamten Versuchszeitraum mit 24,7 kg/Tag erzielte die Gruppe mit der Kombination aus RES+SES. Der Wechsel von RES+SES zu TBL erbrachte demgegenüber einen Abfall in der Futteraufnahme von 22,2 auf 21,9 kg/Tag.

RES+SES bewirkte im 2. Abschnitt die signifikant höchste Milchleistung mit 37,6 kg/Tag (EKM). Die Leistung zwischen den Gruppen mit TBL und TBL+RES waren mit je 36,1 kg/Tag vergleichbar hoch.

Die Unterschiede zwischen den Behandlungen waren in den beiden Abschnitten nicht völlig identisch, was allerdings vor dem Hintergrund der kurzen Dauer bewertet werden muss. Die Daten lassen aber die Schlussfolgerung zu, dass auch bei hoher Milchleistung ein vollständiger Verzicht auf SES möglich ist, wenn behandelte

Tabelle 5: Futteraufnahme und Leistungskennzahlen im Fütterungsversuch (LSMeans und Standardfehler)

Versuchsgruppe Parameter/Ration	Abschnitt 1						Abschnitt 2					
	1		2		3		3		1		2	
	TBL		TBL+RES		RES+SES		TBL		TBL+RES		RES+SES	
Aufnahme												
Trockensubstanz, kg/Tag	21,2 ^a	0,5	22,9 ^b	0,5	22,2 ^b	0,5	21,9 ^a	0,4	23,5 ^b	0,4	24,7 ^c	0,4
NEL, MJ/Tag	158 ^a	3	167 ^b	4	162 ^a	4	163 ^a	3	172 ^b	3	178 ^c	3
XP, g/Tag	3553 ^a	99	3913 ^b	109	4019 ^b	109	3634 ^a	74	3946 ^b	71	4374 ^c	76
nXP, g/Tag	3504 ^a	77	3889 ^b	84	3769 ^b	82	3654 ^a	69	4014 ^b	67	4224 ^c	71
Milchmenge, kg/Tag	37,0 ^a	0,4	39,7 ^b	0,4	38,4 ^c	0,4	35,0 ^a	1,1	36,5 ^b	1,1	37,8 ^b	1,2
EKM, kg/Tag ²	35,3 ^a	0,7	38,1 ^b	0,8	38,0 ^b	0,8	36,1 ^a	0,7	36,1 ^a	0,7	37,6 ^b	0,8
Eiweißgehalt, %	3,04 ^a	0,03	3,09 ^a	0,03	3,19 ^b	0,03	3,29 ^a	0,04	3,34 ^{ab}	0,04	3,39 ^b	0,04
Fettgehalt, %	3,70 ^a	0,04	3,71 ^a	0,04	3,89 ^b	0,04	4,10 ^a	0,04	3,78 ^b	0,04	3,78 ^b	0,04
Harnstoffgehalt, mg/l Milch	300	6	299	6	305	6	312	6	304	5	311	6

^{a,b,c} kennzeichnen signifikante Unterschiede $p < (0,05)$ innerhalb eines Abschnittes

¹ $nXP = [187,7 - (115,4 \times (UDP/XP))] \times DOS + 1,03 \times UDP$ nach GFE (2001)

² energiekorrigierte Milch, berechnet nach: natürliche Milch $\times (1,05 + \text{Fett} (\%) \times 0,38 + \text{Eiweiß} (\%) \times 0,21) / 3,28$ (DLG, 2000)

Lupinen in Kombination mit RES als Proteinträger eingesetzt werden. Sehr hohe Lupinengaben bei Verzicht auch auf RES können derzeit allerdings nicht empfohlen werden. Eine erschöpfende Erklärung für die geringere Aufnahme der TMR TBL kann nicht gegeben werden. Allerdings ist zu bedenken, dass die tägliche Aufnahme an TBL etwa 4 kg betrug und somit sehr hoch war.

BAYOURTHE et al. (1998) diskutieren den Restgehalt an Alkaloiden als mögliche Ursache für die mindernde Wirkung auf den Verzehr. Eine Analyse der in der eigenen Untersuchung verfütterten TBL-Charge ergab einen geringen Alkaloidgehalt von 0,02%. Dieser Wert liegt unter dem geforderten Mindestgehalt von 0,05%, wobei dieser in erster Linie als Obergrenze für Süßlupinen angesehen wird, wenn diese beim Monogastrier eingesetzt werden sollen (UFOP, 2004).

ROBINSON und MCNIVEN (1993) stellten gleichfalls eine verringerte Futteraufnahme bei Einsatz von getoasteten Lupinen fest. Die Autoren verweisen auf eine mögliche Geschmacksbeeinträchtigung thermisch behandelter Lupine.

3.3 *in vitro*-Untersuchungen

3.3.1 Rusitec

Die Untersuchungen mit der Pansensimulationstechnik zeigten, dass der Abbau der OS für die drei untersuchten TMR bei etwa 35% lag (Tabelle 6). Betrachtet man jedoch die einzelnen Rohnährstoffe, dann ergeben sich für die TMR TBL+RES und TBL signifikant höhere Werte für den Abbau des XL, der XF sowie der NDF. Der Abbau des XP lag mit etwa 36% für die TMR RES+SES um 8 bzw. 14%-Punkte signifikant höher als bei den TMR TBL+RES und TBL. Diese Rangierung steht in Übereinstimmung mit den ermittelten Verdaulichkeiten für die einzelnen Rohnährstoffe (siehe Tabelle 4).

Tabelle 6: Abbau (%) der Rohnährstoffe und Detergenzienfasern der TMR nach 48 h Inkubation im Rusitec (Tage 7 - 15, n = 4, Mittelwerte und Standardabweichungen)

Parameter	TMR					
	RES+SES		TBL+RES		TBL	
Organische Substanz	34,8	0,67	35,3	2,10	34,9	1,21
Rohprotein	35,8 ^a	1,71	28,3 ^b	2,67	21,8 ^c	2,31
Rohfett	0,0 ^a		4,5 ^b	3,51	8,0 ^b	1,88
Rohfaser	3,3 ^a	3,33	15,2 ^b	4,94	18,8 ^b	5,09
NDF	15,2 ^a	1,18	20,0 ^b	1,64	20,2 ^b	1,68
ADF	1,9	2,63	5,7	2,38	4,9	3,58

^{a,b,c} kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05)

Der Abbau des Rohproteins von Lupinen im Pansen wurde anhand von *in situ*-Untersuchungen mit 42 bis 95% beziffert (ORSKOV und McDONALD, 1979). Obwohl dieses Verfahren unter Verwendung von Nylonbeuteln und Inkubation im Pansen nicht mit der hier genutzten *in vitro*-Methode vergleichbar ist, deutet der hier ermittelte, vergleichsweise niedrige Abbau des Rohproteins in der TMR TBL von ~22% darauf hin, dass die erfolgte thermische Behandlung zielgemäß zu einer Erhöhung des UDP-Anteils geführt hat. Der Vergleich von unbehandelter und behandelter Lupinensaat hatte *in situ* gezeigt, dass die ruminale Abbaubarkeit des Lupinen-Rohproteins durch thermische Behandlung um mehr als 20%-Punkte sinken kann (AUFRÉRE et al., 2001, BENCHAAR et al., 1994, RÉMOND et al., 2003, RODEHUTSCORD et al., 1999). Laut DIXON und HOSKING (1992) liegt der ruminale Rohproteinabbau für unbehandelte Lupinensaat bei mehr als 75%.

Die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese war für die TMR RES+SES signifikant besser im Vergleich zu den beiden anderen TMR (Tabelle 7). So wurden *in vitro* etwa 195 g MP je kg abgebaute OS gebildet. Dies entspricht etwa 10 g MP je MJ ME, und damit der Annahme im gegenwärtigen nXP-System. Für die Rationen TBL+RES und TBL wurden nur etwa 8 g MP je MJ ME ermittelt. Es ist nicht auszuschließen, dass die thermische Behandlung der Lupine die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen vermindert (RÉMOND et al., 2003).

Tabelle 7: Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese *in vitro* für die drei TMR (n=4, Mittelwerte und Standardabweichungen)

Parameter	TMR		
	RES+SES	TBL+RES	TBL
MP/OS _{abg.} ¹ , g/kg	195 ^a 10,0	162 ^{ab} 19,9	153 ^b 30,5
MP/ME ² , g/MJ	10,1 ^a 0,52	8,3 ^b 0,76	7,9 ^b 1,44

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05)

¹ mikrobielles Rohprotein je Einheit abgebaute organische Substanz

² mikrobielles Rohprotein je Einheit Umsetzbarer Energie (basierend auf den mit Hammeln bestimmten verdaulichen Rohnährstoffen)

Die höhere Menge an MP bei der Zugabe von RES zur Lupine könnte zu einer verbesserten Aminosäurenversorgung geführt haben. Dies könnte eine mögliche Erklärung für die Zunahme in der Futteraufnahme sein, die bei der Versuchsgruppe festzustellen war, die nach der alleinigen TBL-Fütterung zusätzlich RES erhielten (Abschnitt 3.2). Es ist zu vermuten, dass insbesondere die Versorgung mit

Methionin, einer der potenziell limitierenden Aminosäuren, wegen des hohen Gehaltes im Rapsprotein besser war.

Es konnten keine wesentlichen Unterschiede im Aminosäurenmuster der Referenzmikroben zwischen den TMR ermittelt werden (Tabelle 8). Lediglich die Konzentrationen von Cystin und Isoleucin waren im Protein der Referenzmikroben aus der TMR RES+SES höher im Vergleich zu den anderen TMR. Der Austausch einzelner Futtermittel innerhalb einer TMR hatte auch in der Untersuchung von KORHONEN et al. (2002) keinen Einfluss auf das Aminosäurenmuster der isolierten Mikrobenfraktionen. Andere *in vitro*-Untersuchungen hatten jedoch deutliche Effekte der Rationszusammensetzung, insbesondere bei der Variation des eingesetzten Proteinträgers, auf die Mikrobenpopulation und als Konsequenz auf das Aminosäurenmuster des mikrobiellen Proteins nachgewiesen (CALSAMIGLIA et al., 1995).

Tabelle 8: Aminosäurenkonzentrationen im Protein der Referenzmikroben (g/16 g N) aus der *in vitro*-Inkubation der drei untersuchten TMR (Tage 7-15, n = 4, Mittelwerte und Standardabweichungen)

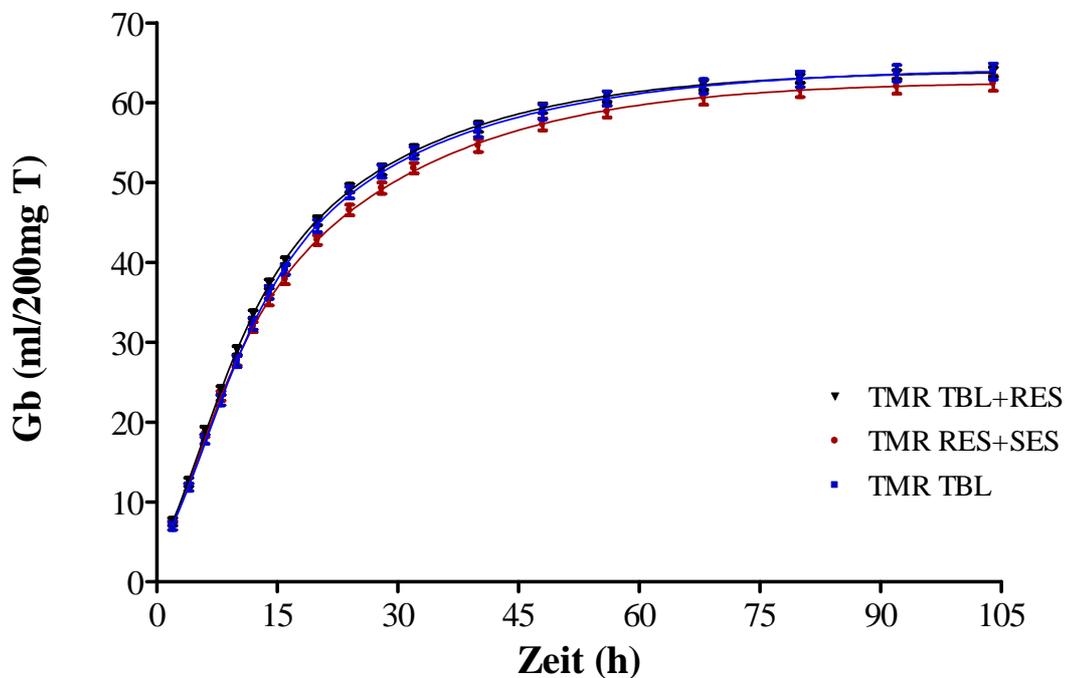
Parameter	TMR					
	RES+SES		TBL+RES		TBL	
Alanin	7,22	0,26	7,19	0,29	7,18	0,11
Arginin	4,25	0,23	4,32	0,21	4,27	0,08
Asparaginsäure	11,0	0,32	10,8	0,28	10,8	0,23
Cystin	1,28 ^a	0,02	1,17 ^b	0,05	1,20 ^{ab}	0,08
Glutaminsäure	11,9	0,18	11,7	0,37	11,6	0,35
Glycin	4,94	0,35	4,75	0,30	4,77	0,17
Isoleucin	5,10 ^a	0,11	4,88 ^b	0,10	4,93 ^{ab}	0,15
Leucin	7,17	0,12	7,08	0,09	7,02	0,15
Lysin	6,98	0,10	7,15	0,19	7,11	0,38
Methionin	2,73	0,07	2,66	0,11	2,67	0,05
Phenylalanin	4,49	0,06	4,38	0,05	4,45	0,18
Prolin	3,40	0,35	3,19	0,20	3,23	0,22
Serin	3,57	0,11	3,52	0,14	3,50	0,17
Threonin	4,85	0,11	4,80	0,15	4,76	0,15
Valin	5,72	0,05	5,58	0,05	5,58	0,23

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$)

3.3.2 Hohenheimer Futterwert Test

Der Faktor Gasbildung aus der *in vitro*-Inkubation eines Futtermittels mit nativem Pansensaft ist neben der Einschätzung der Energiekonzentration (MENKE und

STEINGASS, 1987) ein Maß für die Höhe der mikrobiellen Synthese (KRISHNAMOORTHY et al., 1991). Unterschiede im ausgebildeten Plateau und Differenzen in der Gasbildungsrate kennzeichnen Fermentationseigenschaften von Futtermitteln. Die hier verwendeten TMR wiesen keine Unterschiede in ihrer Energiekonzentration auf, was sich auch im Vergleich der Plateauwerte für die Gasbildung widerspiegelt (Abbildung 1). Das geschätzte Plateau der Gasbildung lag für die drei TMR zwischen 63 und 65 mL/200 mg T. Die maximale Gasbildungsrate bei etwa 2,8 mL/h. Nominale Unterschiede wurden bei den geschätzten Werten des Zeitpunktes ($t_{\text{Wendepunkt}}$) des Auftretens der maximalen Gasbildungsrate deutlich. Die TMR TBL erreichte diesen Punkt 0,7 h später als die TMR RES+SES. Dies könnte auf eine verzögerte Nährstoffverfügbarkeit in der TMR mit Lupine hindeuten.

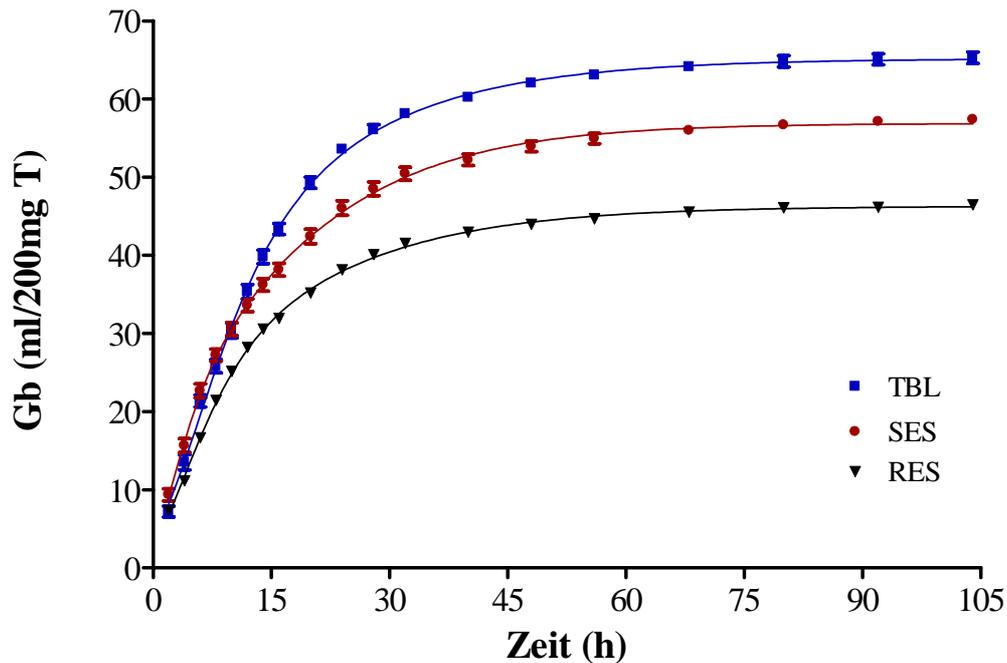


Parameter		RES+SES	TBL+RES ¹	TBL
b	mL	62,7	64,1	64,8
		1,93	1,67	2,22
maximale Gasbildungsrate	mL/h	2,8	2,9	2,8
$t_{\text{Wendepunkt}}$	h	5,0	5,4	5,7

¹ n = 8

Abbildung 1: Kumulative Gasbildung (Mittelwerte und Standardabweichung, n = 7) der drei untersuchten TMR einschließlich der abgeleiteten Parameter laut Gleichung 5 sowie der 1. und 2. Ableitung der Funktion

Die Rangierung der Einzelkomponenten nach den Plateaus der Gasbildung ist analog den berechneten Energiekonzentrationen (Abbildung 2). So wies die TBL mit einem geschätzten Plateau von 64 mL/200 mg T eine um 17 mL höhere Gasbildung im Vergleich zu RES auf. Die maximalen Gasbildungsraten sowie $t_{\text{Wendepunkt}}$ von SES und TBL waren vergleichbar (3,5 mL/h bei ~ 3 h). RES wies dazu mit einer maximalen Gasbildungsrate von 2,5 mL/h nach 4,5 h deutliche Unterschiede auf.



Parameter		SES	RES ¹	TBL
b	mL	56,9	46,5	64,4
		1,90	1,08	1,50
maximale Gasbildungsrate	mL/h	3,5	2,5	3,5
$t_{\text{Wendepunkt}}$	h	2,9	4,5	3,3

¹ n = 6

Abbildung 2: Kumulative Gasbildung (Mittelwerte und Standardabweichung, n = 8) der drei Proteinträger einschließlich der abgeleiteten Parameter laut Gleichung 5 sowie der 1. und 2. Ableitung der Funktion

4. Schlussfolgerungen

Thermisch behandelte Lupinen sind in Kombination mit Rapsextraktionsschrot gut geeignet, Sojaextraktionsschrot in Milchkurationen zu ersetzen. Hinsichtlich des Aminosäurenmusters im mikrobiellen Protein, der Futteraufnahme und der Milchleistung sind keine Nachteile zu erwarten. Die *in vitro*-Daten geben einen Hinweis darauf, dass bei Einsatz der thermisch behandelten Lupinen die Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen vermindert sein kann. Dies könnte die in einem Versuchsabschnitt beobachtete Verminderung des Milcheiweißgehaltes erklären. Bei Einsatz von behandelten Lupinen als alleinigem Hauptproteinträger ist zur Sicherung der nXP-Versorgung eine Aufnahme von bis zu 4 kg Lupinen pro Tag nötig. Bei diesen hohen Mengen traten negative Effekte auf den Verzehr und die Milchleistung der Kühe auf, deren Ursachen noch nicht abschließend geklärt sind. Sie gingen einher mit einer verminderten Effizienz der mikrobiellen Synthese. In weiteren Untersuchungen sollte geklärt werden, welche speziellen Futterwert-eigenschaften der thermisch behandelten Lupine die geringere Futteraufnahme bedingen.

5. Literatur

- AFBN, 1991: Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Rohnährstoffen an Wiederkäuern. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 65, 229-234
- ALI, T. E., L. R. SCHAEFFER, 1987: Accounting for covariances among test day milk yields in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 67, 637-644
- AUFRÉRE, J., D. GRAVIOU, J. P. MELCION, C. DEMARQUILLY, 2001: Degradation in the rumen of lupin (*Lupinus albus* L.) and pea (*Pisum sativum* L.) seed proteins: Effect of heat treatment. *Animal Feed Science and Technology* 92, 215-236
- BAYOURTHE, C., R. MONCOULON, F. ENJALBERT, 1998: Effect of extruded lupin seeds as a protein source on lactational performance of dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 72, 121-131
- BENCHAAR, C., R. MONCOULON, C. BAYOURTHE, M. VERNAY, 1994: Effects of a supply of raw or extruded white lupin seeds on protein digestion and amino acid absorption in dairy cows. *Journal of Animal Science* 72, 492-501
- BEUVINK, J. M. W., J. KOGUT. 1993: Modeling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid. *Journal of Animal Science* 71, 1041-1046

- BOGUHN, J., H. KLUTH, M. RODEHUTSCORD, 2006: Effect of total mixed ration composition on fermentation and efficiency of ruminal microbial crude protein synthesis in vitro. *Journal of Dairy Science*, angenommen.
- BRANDT, M., K. ROHR, 1981: Beiträge zur Quantifizierung der N-Umsetzungen in den Vormägen von Milchkühen 1. Mitteilung: Bestimmung des Mikrobenstickstoffs im Duodenalchymus mit Hilfe von ¹⁵N. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* 46, 39-48
- CALSAMIGLIA, S., M. D. STERN, J. L. FIRKINS, 1995: Effects of protein source on nitrogen metabolism in continuous culture and intestinal digestion in vitro. *Journal of Animal Science* 73, 1819-1827
- CZERKAWSKI, J. W., G. BRECKENRIDGE, 1977: Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *British Journal of Nutrition* 38, 371-384
- DIXON, R. M., B. J. HOSKING, 1992: Nutritional value of grain legumes for ruminants. *Nutrition Research Reviews* 5, 19-43
- DLG, 2000: Empfehlungen zum Einsatz von Mischrationen bei Milchkühen. DLG-Information 1/2000, DLG-Verlag Frankfurt (Main)
- DLG, 1997: DLG - Futterwerttabellen, Wiederkäuer. 7. Auflage, Universität Hohenheim, Dokumentationsstelle, DLG-Verlag Frankfurt/Main
- GFE, 2001: Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. DLG -Verlag, Frankfurt (Main)
- GFE, 1997: Zum Proteinbedarf von Milchkühen und Aufzuchtrindern. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology* 6, 217
- GFE, 1995: Mitteilungen des Ausschusses für Bedarfsnormen: Zur Energiebewertung beim Wiederkäuer. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology* 4, 121-123
- KENWARD, M.G., J. H. ROGER, 1997: Small sample inference for fixed effects from restricted maximum likelihood. *Biometrics* 53, 983
- KORHONEN, M., S. AHVENJÄRVI, A. VANHATALO, P. HUHTANEN, 2002: Supplementing barley or rapeseed meal to dairy cows fed grass-red clover silage: II. Amino acid profile of microbial fractions. *Journal of Animal Science* 80, 2188-2196
- KRISHNAMOORTHY, U., H. STEINGASS, K. MENKE, 1991: Preliminary observation on the relationship between gas production and microbial protein synthesis in vitro. *Archives of Animal Nutrition* 41, 521-526
- LITTELL, R. C., G. A. MILLIKEN, W. W. STROUP und R. D. WOLFINGER. 1996. SAS system for mixed models No. 2004. SAS Institute Inc., Cary, NC
- MASON, V. C., M. RUDEMO, S. BECH-ANDERSEN, 1980: Hydrolysate preparation for amino acid determinations in feed constituents. 6. The influence of phenol and formic acid on the recovery of amino acids from oxidized feed protein. *Zeitschrift für Tierphysiologie, Tierernährung und Futtermittelkunde* 43, 35-48
- MCDUGALL, E. I., 1948: Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *The Biochemical Journal* 43, 99-109

- MENKE, K. H., H. STEINGASS, 1987: Schätzung des energetischen Futterwertes aus der *in vitro* mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse. II. Regressionsgleichungen. *Übersichten Tierernährung* 15, 59-94
- MENKE, K., L. RAAB, A. SALEWSKI, H. STEINGASS, D. FRITZ, and W. SCHNEIDER, 1979: The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 93, 217-222
- MINATO, H., T. SUTO, 1978: Technique for fractionation of bacteria in rumen microbial ecosystem. II. Attachment of bacteria isolated from bovine rumen to cellulose powder *in vitro* and elution of bacteria attached therefrom. *The Journal of General and Applied Microbiology* 24, 1-16
- NAUMANN, C., R. BASSLER, 1976: VDLUFA-Methodenbuch, Vol. III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln mit Ergänzungen von 1983, 1988, 1993 und 1997. VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- NIBBE, D., P. LEBZIEN, H. SPIEKERS, H. STEINGASS, K.-H. SÜDEKUM, 2001: Vergleich verschiedener *in vitro*- und *in situ*-Verfahren zur Beurteilung des Proteinwertes von Raps- und Sojaextraktionsschrot. VDLUFA-Kongreß Berlin 2001, VDLUFA-Schriftenreihe, 111
- ØRSKOV, E.R., I. McDONALD, 1979: The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science* 92, 499-503
- RANILLA, M. J., M. D. CARRO, 2003: Diet and procedures used to detach particle-associated microbes from ruminal digesta influence chemical composition of microbes and estimation of microbial growth in *Rusitec* fermenters. *Journal of Animal Science* 81, 537-544
- RÉMOND, D., M. P. LE GUEN, C. PONCET, 2003: Degradation in the rumen and nutritional value of lupin (*Lupinus albus* L.) seed proteins: effect of extrusion. *Animal Feed Science and Technology* 105, 55-70
- ROBINSON, P. H., M. A. MCNIVEN, 1993: Nutritive value of raw and roasted sweet lupins (*Lupinus albus*) for lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 43, 275-290
- RODEHUTSCORD, M., P. YOUNG, N. PHILLIPS, C. L. WHITE, 1999: Wool growth in Merino wethers fed lupins untreated or treated with heat or formaldehyde, with and without a supplementation of rumen protected methionine. *Animal Feed Science and Technology* 82, 213-226
- SCHOFIELD, P. 2000: Gas production methods. in *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. D`Mello, J.P.F., 209-232
- SHANNAK, S., K.-H. SÜDEKUM, A. SUSENBETH, 2000: Estimating ruminal crude protein degradation with *in situ* and chemical fractionation procedures. *Animal Feed Science and Technology* 85, 195-214
- SPIEKERS, H., M. RODEHUTSCORD, K.-H. SÜDEKUM, 2000: Rapsextraktionsschrot häufig zu hoch bewertet. *Kraftfutter* 9, 343-347

- SILKE, J., A. TUCHSCHERER, 2001: Simulationsuntersuchungen zum Einfluss verschiedener Strategien der Varianzkomponentenschätzung und Hypothesenprüfung auf die statistischen Risiken in gemischten linearen Modellen mit ungleicher Klassenbesetzung. Zeitschrift für Agrarinformatik 4, 66-75
- TIMMLER, R., M. RODEHUTSCORD, 2003: Dose-response relationship for valine in the growing White Peking duck. Poultry Science 82, 1755-1762
- UFOP, 2004: Inhaltsstoffe, Futterwert und Einsatz von Lupinen in der Nutztierfütterung. UFOP-Praxisinformation
- VAN ES, A. J. H., 1978: Feed evaluation for ruminants. I. The systems in use from May 1977 onwards in the Netherlands. Livestock Production Science 5, 331-345
- VAN SOEST, P. F., 1963: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 2. A rapid method for the determination of fibre and lignin. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists 46, 829-835
- WINK, M., 1992: Methoden zum Nachweis von Lupinen-Alkaloiden. In: Lupinen 1991 - Forschung, Anbau und Verwertung. Ed. M. Wink, 78-90
- WINK, M., 1987: Quinolizidine alkaloids: biochemistry, metabolism, and function in plants and cell suspension cultures. Planta Medica 53, 509-514