

Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften,
Geowissenschaften und Informatik
der Naturwissenschaftlichen Fakultät III

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Nutritional strategies to optimize efficiency of nitrogen use by lactating dairy cows

Kumulative Dissertation

zur Erlangung des
Doktorgrades der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

vorgelegt von

Dipl.-Ing. agr. (FH) Jan Schuba

geb. am 15.12.1981 in Bonn

Gutachter: Prof. Dr. Annette Zeyner
Prof. Dr. Karl-Heinz Südekum
Prof. Dr. Andreas Susenbeth

Verteidigung am 23.4.2018

Halle/Saale 2018

Meiner Familie

TABLE OF CONTENTS

TABLE OF CONTENTS	I
FIGURES.....	II
TABLES	III
ABBREVIATIONS.....	VI
CHAPTER 1	
Synopsis.....	1
1.1 General introduction	1
1.2 Nitrogen in dairy cows.....	3
1.3 Calculation of requirements	6
CHAPTER 2	
Scope of the thesis.....	8
CHAPTER 3	
Pansengeschützte Aminosäuren in der Milchkuhfütterung unter besonderer Berücksichtigung von Methionin und Lysin.....	9
CHAPTER 4	
Nitrogen supply in cattle coupled with appropriate supply of utilisable crude protein at the duodenum, a precursor to metabolisable protein	47
CHAPTER 5	
Excretion of faecal, urinary urea and urinary non-urea nitrogen by four ruminant species as influenced by dietary nitrogen intake: a meta-analysis	62
CHAPTER 6	
General discussion.....	70
CHAPTER 7	
Conclusions.....	80
CHAPTER 8	
Summary.....	81
CHAPTER 9	
Zusammenfassung.....	83
REFERENCES.....	85

FIGURES

CHAPTER 1

Figure 1:	Differentiation of faecal nitrogen	7
-----------	--	---

CHAPTER 3

Figure 1:	Scheme of protein and N transfer in the gastro-intestinal tract of ruminants (according to Jeroch et al. 1999, modified)	15
Figure 2:	Utilisation of protein and carbohydrates by rumen bacteria (according to Nocek and Russell 1988, modified)	16
Figure 3:	Scheme regarding amino acid fluxes in mammary alveolar cells and amino acid transfer to milk protein (according to Maas et al. 1998, simplified)	23
Figure 4:	Scheme regarding the metabolism of non-esterified-fatty acids (NEFA) in the dairy cow (according to Drackley 1999, modified)	26
Figure 5:	Chemical structure of (1) 2-hydroxy-4-methylthio-butanoic acid, (2) 2-hydroxy-4-methylthio-butanoic isopropylester and (3) and methionine	31

CHAPTER 6

Figure 1:	Comparison between low and high nitrogen intake, assuming equal dietary energy (according to van Soest (1994), modified)	73
-----------	--	----

TABLES

CHAPTER 1

Table 1: Pregnancy rate (PR) likelihood ratios for cows categorized by milk urea nitrogen concentration (MUN) and plasma urea nitrogen concentration (PUN) on the day of insemination (according to Butler et al. 1995)	5
Table 2: Requirements of utilisable protein according to their milk yield (adapted from GfE, 2001, modified)	7

CHAPTER 3

Table 1: A comparison of the essential amino acid profiles of lean body tissue, milk protein, ruminal bacteria and protozoa, and common feedstuffs (data from literature surveys by Lebzien 1997 ^a ; Fox et al. 2004 ^b ; all other values: DEGUSSA 2001)	18
Table 2: Content of ruminally undegradable protein (% of crude protein) of different protein feeds (Universität Hohenheim - Dokumentationsstelle 1997)	19
Table 3: Chemical fractionation of the crude protein of feedstuffs for ruminants (Licitra et al. 1996)	20
Table 4: Estimation of methionine supply as related to milk yield or varying methionine utilization (according to Jochmann et al. 1996)	25
Table 5: Effect of supplemental rumen-protected lysine, methionine or both amino acids added to the ration of lactating dairy cows on the average plasma concentration of urea and free amino acids (according to Trinacty et al. 2009)	29
Table 6: Changes of milk protein concentration (percentage units) and milk yield (kg ECM) in response to rumen-protected methionine supplementation relative to the unsupplemented control ration	32
Table 7: Trials with one or more supplemented (rumen-protected) methionine-/lysine-sources – effects on milk yield and milk composition	33

Tables

Table 8:	Changes of milk protein concentration (percentage units) and milk yield (kg ECM) in response to rumen-protected lysine, which was supplemented alone or in combination with rumen-protected methionine, relative to the unsupplemented control diet	36
----------	---	----

Table 9:	Guidance values for the supply of dairy cows with utilisable methionine (nMet) and lysine at the duodenum (nLys; according to Schröder et al. 2008, modified)	41
----------	---	----

CHAPTER 4

Table 1:	Irreversible loss (IRL) of N from body urea pool, excretion of urinary urea-N (UUN) and net degradation of urea in ruminants	51
----------	--	----

Table 2:	N excretion in ruminants related to dry matter intake	53
----------	---	----

Table 3:	N excretion as urinary urea-N (UUN) and other urinary N compounds (UNUN) in ruminants related to the feed-N content	55
----------	---	----

Table 4:	Requirements of total-N intake (expressed as [g/d] and g/kg dry matter intake [g/kg DMI]) of dairy cattle to reach stable N-balances on the assumption of sufficient energy intake and body weight of 650 kg	57
----------	--	----

Table 5:	Requirements of crude protein (g/kg DM) for stable N balances in dairy cattle	58
----------	--	----

CHAPTER 5

Table 1:	Statistical description of the database	64
----------	---	----

Table 2:	Equations for linear regression between dietary nitrogen level (independent variable) and faecal and urinary nitrogen-excretion (response variable; faecal nitrogen, urinary nitrogen, urinary urea nitrogen, urinary non-urea nitrogen, nitrogen retention, milk yield and milk composition of dairy cattle, growing cattle, sheep and goats	65
----------	---	----

CHAPTER 6

Table 1:	Comparison of the requirements for utilisable crude protein according to GfE (2001) (RGuCP) and requirements for crude protein according to Pfeffer et al. (2016) (RPCP)	74
----------	--	----

Table 2:	Requirements for crude protein (CP) and utilisable crude protein (uCP) (according to Ulbrich et al. 2006)	74
----------	---	----

Tables

Table 3: Trials with crude protein reduction – a comparison of the requirements for utilisable protein according to GfE (2001) (RGuCP) and requirements for crude protein according to Pfeffer et al. (2016) (RPCP)76

APPENDIX

Table 1: N-excretion in ruminants related to dry matter intake (References cited in Chapter 4 and Chapter 5 “Appendix”90

ABBREVIATIONS

(used in Synopsis, General Discussion, Conclusions and Summary)

AA	Amino acid(s)
AAN	Amino acid nitrogen
ADF	Acid detergent fibre
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft/ Federal Ministry of Food and Agriculture
BUN	Blood urea nitrogen
CNCPS	Cornell net carbohydrate and protein system
CP	Crude protein
d	Day
DM	Dry matter
DMI	Dry matter intake
EL	Early lactation (<100 days postpartum)
EAA	Essential amino acid(s)
ENL	End of lactation (>200 days postpartum)
FN	Total faecal nitrogen excretion
FNe	Endogenous faecal nitrogen
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (Society of Nutrition Physiology)
Lys	Lysine
ML	Mid lactation (100 - 200 days postpartum)
ME	Metabolisable energy
Met	Methionine
MCP	Microbial crude protein
MUN	Milk urea nitrogen
N	Nitrogen
n	Number, sample size
NDF	Neutral detergent fibre
NEC	National Emission Ceilings
NEL	Net energy of lactation

Abbreviations

NFC	Non-fibre carbohydrates
NH ₃	Ammonia
NI	Nitrogen intake
NO ₃	Nitrate
n.n.	Not named
PR	Pregnancy rate
PUN	Blood plasma urea nitrogen
r ²	Coefficient of determination
reduc	Group with reduced crude protein supply
RGuCP	Requirements for utilisable crude protein according to GfE (2001)
RPCP	Requirements for crude protein according to Pfeffer et al. (2016)
RNB	Ruminal nitrogen balance
RPAA	Rumen protected amino acid(s)
RPLys	Rumen protected lysine
RPMet	Rumen protected methionine
uCP	Utilisable crude protein at the duodenum
RUP	Ruminally undegraded protein
UN	Total urine nitrogen excretion
UNe	Endogenous urine nitrogen
UNUN	Urine non urea nitrogen
UUN	Urine urea nitrogen
Δ	Difference

CHAPTER 1

Synopsis

1.1 General introduction

“The nitrogenous components of the diet support the protein metabolism of the rumen organisms and their host, but the interactions of diet, microbes, and animal host that determine the net supply of protein to the host are complex.” Van Soest (1994)

Protein intake is essential for the synthesis of milk and muscle protein, both in ruminants and in monogastric animals. Protein is absorbed intestinally in the form of absorbable amino acids in both ruminants and monogastric animals; the only difference lies in the source of these amino acids (AA). In ruminants, AA come from dietary protein that has not been degraded in the rumen, from microbial protein and protein from endogenous sources. Nitrogen (N) is essential for synthesising non-essential AA. Crude protein (CP) is calculated from $N \cdot 6.25$ and utilisable crude protein at the duodenum (uCP) from the sum of ruminally undegraded crude protein (RUP) and microbial crude protein (MCP).

Any considerations regarding recommendations on the adequate supply of N, uCP and ultimately AA in ruminants must balance a number of aspects; not only the primary objective of optimally meeting relevant performance requirements for milk volumes, fattening performance and/or milk protein, but also economic and environmental aspects in relation to the supply of N and protein. Consequently, the aspects of adequacy for performance requirements, animal health, economic considerations and the environmental effects of N excretion in urea must be given equal consideration (Kehraus et al. 2006). Despite best efforts to reduce N, negative ruminal N balances should be avoided. Ruminal N deficiencies result in inadequate microbial protein synthesis, as N in the form of ammonia limits both energy supply and protein synthesis (Clark et al. 1992, van Soest 1994).

Approaches to N reduction or the reduction of CP/kg dry matter (DM) concentrations respectively have been widely taken into account in numerous feeding trials (e.g. van de Sand et al. 2008, Etle et al. 2010, Engelhard et al. 2013) and recommendations. However, the current recommendations given by the Society of Nutrition Physiology (GfE) for the supply of lactating dairy cows with uCP (GfE 2001) are based on a derivation of net N requirements (in g/day) that warrants further examination in view of more recent insights.

This thesis examines two core approaches in more detail from the background outlined above: It first discusses the aspect of the targeted calculation and manipulation of the absorbable AA profile in the intestines of dairy cows when concurrently reducing the CP concentration/kg DM and investigates the effects of supplementing rumen protected AA (RPAA). In this context, this thesis may be able to add greater precision to existing models of calculation and estimation respectively in order to optimally determine AA requirements, above all for methionine (Met) and lysine (Lys).

The minimum possible N contents in feeds required for maintenance of an adequate level of microbial protein synthesis are then deduced. Relevant assumed correlations between obligatory N excretions via urine and faeces and those that can be influenced via N intake (NI) are next verified by means of meta-analysis. In the following step, derived minimal N concentrations in feeds for ensuring the adequate supply of ruminal microbes with N/obtaining a positive ruminal N balance (RNB) and corresponding concentrations of CP/kg DM are correlated with results from current trials with practical relevance. This step also includes verification of the extent to which these derived values for stable/adequate N concentrations/kg DM correspond to practical dairy cow feeding recommendations or the extent to which a reduction in CP concentrations/kg DM has practical relevance respectively.

Both approaches are aimed at the overall objective of improving the efficiency of N utilisation and thus enabling a further reduction in N losses in dairy cow feeding.

As the topic of protein and AA metabolism has been comprehensively reviewed in Chapter 3, the following sections only discuss selected additional negative aspects and consequences of a ruminal oversupply of N.

1.2 Nitrogen in dairy cows

An unpolluted environment forms the basis for healthy, sustainable livestock nutrition and rearing. However, intensifying livestock production with the associated nutritional feeding practices results in increasing N excretions, which in turn can cause environmental pressure. Utilising available resources as efficiently as possible and improving nutrient and therefore N efficiency in the process constitute the main controls that will enable sufficient quantities of protein for human nutrition to be produced worldwide in the long term (Flachowsky 2004).

Nitrogen and environment

The release of nitrate (NO_3) into and its accumulation in groundwater, as well as the release of ammonia (NH_3) into the atmosphere, are causally linked to the hydrolysis of urea-N by urease enzymes (Burgos et al. 2007). A total of 75 – 80 % of NH_3 emissions are derived from livestock farming, with 50 % from cattle farming alone. Arriola Apelo et al. (2014a) reported of faecal and urinary N excretions of up to 75 % in dairy cows receiving an adequate CP supply for their needs. Oversupply with protein results in higher volumes of urine (Leonardi 2003, Kehraus et al. 2006), higher excretions of urea and N and consequently higher NH_3 emissions and higher accumulations of NO_3 . These correlations are receiving more and more attention, and they form the basis for national and international legislation. The requirements of the so-called Nitrates Directive (Council Directive 91/676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources) (EU Parliament 1991) and the NEC Directive (National Emission Ceilings - Directive on National Emission Ceilings for certain pollutants) (EU Parliament 2001), for example, form the legal and factual basis for the proposed amendment to the Fertiliser Ordinance (Federal Ministry of Food and Agriculture/Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft – BMEL 2016).

Economic aspects of nitrogen intake in dairy cows

Apart from this core environmental aspect, CP additionally represents a major cost factor in feeding any farmed livestock. Depending on the market situation for feed protein, the proportional feed costs for sources of protein in dairy cow rations may account for up to 42 % of total feed costs (Arriola Apelo et al. 2014b). The detoxification of NH_3 to urea in the liver is additionally a process that requires very large amounts of energy. The Cornell Net Carbohydrate

and Protein System (CNCPS) (Fox et al. 2004), a mathematical model for calculating feed rations and nutrient excretion, for example, takes this additional amount of energy into account by determining “urea costs” (megacalories/d) by way of an estimation equation:

$$(\text{RNB (g/d)} - \text{recycled N (g/d)} + \text{Excess N from metabolisable protein (g/d)}) \cdot 0.0073$$

However, dairy cow feeding practices worldwide result in enormous variation in terms of N and protein efficiency. When looking at the N determination from milk protein alone, there are, for example, clear variations depending on the feeding regime, the CP concentration/kg DM and the possible supplementation of essential amino acids (EAA). This allows early conclusions to be drawn regarding N efficiency (Arriola Apelo et al. 2014b).

Nitrogen supply and fertility

Economic considerations take animal health and aspects of fertility, length of productive life and restocking rates into account. In practical dairy cow feeding regimes, the milk urea nitrogen (MUN) level is an important tool for monitoring the efficiency of microbial protein synthesis (Guliński et al. 2016). MUN correlates positively not only with faecal and, above all, urinary N excretions (UN) (Kauffmann and St-Pierre 2001, Kohn et al. 2002) (e.g. Kauffmann and St-Pierre (2001): $\text{UN (g/d)} = 12.54 \text{ MUN (mg/dl)}$), but also with urea N levels in blood (BUN), as urea N is able to diffuse directly from blood into milk (Kauffmann and St-Pierre 2001). Butler et al. (1995) similarly describe a correlation between MUN and plasma urea nitrogen (PUN):

$$\text{MUN (mg/dl)} = 0.76 \cdot \text{PUN (mg/dl)} + 6.3 \quad (r^2 = 0.69, p < 0.001)$$

This correlation between MUN and PUN is also found by Burgos et al. (2007) across the entire lactation period:

$$\text{MUN (mg/dl)} = 2.29 (\pm 0.55) + 0.61 (\pm 0.07) \cdot \text{PUN (mg/dl)} + 0.01 (\pm 0.002) \cdot \text{PUN (mg/dl)}^2 \\ (r^2 = 0.99, p < 0.001)$$

Consequently, MUN can be used for deriving potential effects on PUN in practical ration control. The CP level in feed rations correlates with UN, urine urea nitrogen (UUN) as well as MUN and PUN (Burgos et al. 2007). Negative effects on animal health and specifically animal fertility can be found with increasing MUN and PUN concentrations:

Butler et al. (1995) found evidence of fertility rates being reduced by 18 % with PUN rates of >19 mg/dl compared to PUN <19 mg/dl ($p < 0.02$). They concluded that urea N concentrations of >19 mg/dl PUN and MUN correlate negatively with conception rates in dairy cows (Table 1).

Table 1: Pregnancy rate (PR) likelihood ratios for cows categorized by milk urea nitrogen concentration (MUN) and plasma urea nitrogen concentration (PUN) on the day of insemination (according to Butler et al. 1995)

MUN ^a /PUN ^b category, mg/dl	MUN cows, n ^c	PUN cows, n	MUN PR ^d , %	PUN PR, %	Percentage				MUN Likeli- hood ratio ^e	PUN Likeli- hood ratio
					MUN Not pregn- ant	PUN Not pregn- ant	MUN pregn- ant	PUN pregn- ant		
<16.0	16	51	75	49	5.5	29.5	14.6	34.7	2.65	1.18
16.1 - 18.9	28	44	64	57	13.7	21.6	22.0	34.7	1.61	1.61
19.0 - 21.9	46	40	48	32	32.9	30.7	26.8	18.1	0.81	0.59
22.0 - 24.9	36	17	47	29	20.7	13.6	26.0	6.9	0.80	0.51
≥25.0	29	8	45	50	16.9	4.5	21.9	5.6	0.73	1.24

Notes: ^aMUN, Milk urea nitrogen; ^bPUN, Bloodplasma urea nitrogen; ^cn, Sample size; ^dPR, Pregnancy rate; ^eLikelihood ratio, Percentage of cows pregnant divided by the percentage of the cows not pregnant.

Larson et al. (1996) also found that MUN and the number of lactations affect conception rates, which is also consistent with the results obtained by de Kruif et al. (2007). Larson et al. (1996) additionally concluded that MUN affects the reproductive cycle in dairy cows. With MUN >21 mg/dl, a single cycle extends over 21 days, whereas with MUN <21 mg/dl, the cycle was extended. This latter correlation cannot be fully explained yet at this stage. Melendez et al. (1999) were unable to confirm a correlation between MUN and fertility rates (MUN >16 mg/dl vs. MUN <16 mg/dl). However, they demonstrated that MUN and the time of service have a strong impact on fertility rates. In dairy cows with MUN >16 mg/dl that were served in summer, the risk of non-gestation was 18 times higher than in dairy cows with MUN <16 mg/dl that were served in winter. However, no clear conclusions can be drawn, since the two variables of time of service (see also de Kruif et al. 2007) and MUN concentration were coupled. Rhoads et al. (2006) concluded that PUN >19 mg/dl has a negative effect on fertility rates, citing the reduced viability of embryos as the reason, which in turn is due to the uterine environment being negatively affected by elevated PUN concentrations. This results in a toxic effect of urea on oocysts and early embryonic development stages (see also Butler 1998). However, the precise times and mechanisms involved have not yet been identified. Santos et al. (2009) have shown that increasing PUN levels (<13 mg/dl vs. 13 - 16 mg/dl vs. >16 mg/dl) result in the formation of significantly fewer blastocysts ($p < 0.05$).

As a consequence, PUN levels >16 mg/dl result in substantially reduced blastocyst development and impaired viability of future blastocysts.

1.3 Calculation of requirements

This section first sets out details on the derivation of uCP requirements according to GfE (2001) in order to support the understanding of the approach taken in this thesis regarding the derivation of minimally required N concentrations in feeds (Chapter 4).

The net N requirements of dairy cows are expressed in terms of the sum of endogenous losses (via faeces and urine), surface losses (skin and hair), the protein deposition for growth (in heifers) and the protein deposition for milk protein. If one focuses on endogenous N losses via faeces (FNe) (see also Fig. 1) and urine (UNe), these are described as follows (both expressed in g/day (g/d)):

$$\text{UNe} = 5.90206 \log \text{ live weight} - 6.76$$

$$\text{FNe} = 2.19 \cdot \text{kg dry matter intake (DMI)}$$

In terms of endogenous N losses via urine, UNe is the sole reference value; UN is not separated into urine non-urea nitrogen (UNUN) and UUN. The approach taken to deriving requirements based on FNe additionally warrants further examination in view of more recent insights, as the factorial derivation of needs from FNe is based on assumptions and partially available measured parameters only as shown below:

- the assumption of a median N flow in the proximal duodenum of 20.8 g N/kg DMI
- estimated digestibilities and absorbabilities of amino acid N (AAN) in the small intestine of 70 - 85 % respectively
- the resulting difference between absorbed and seemingly digested AAN of 2.19 g AAN/kg DMI (= FNe)

No degradation of body protein is taken into account at all. Based on the net N requirements shown, uCP requirement data are then calculated and shown (Table 2). The calculation of uCP requirements (g/d) takes into account the utilisation of absorbed utilisable AAN (75 % = 1.33), the absorbability of utilisable AAN (85 % = 1.18) and the portion of AAN in non-NH₃ N (73 % = 1.37) in the duodenum.

$$\text{uCP requirements} = \text{net requirement} \cdot 1.33 \cdot 1.18 \cdot 1.37 (= \text{net requirement} \cdot 2.1)$$

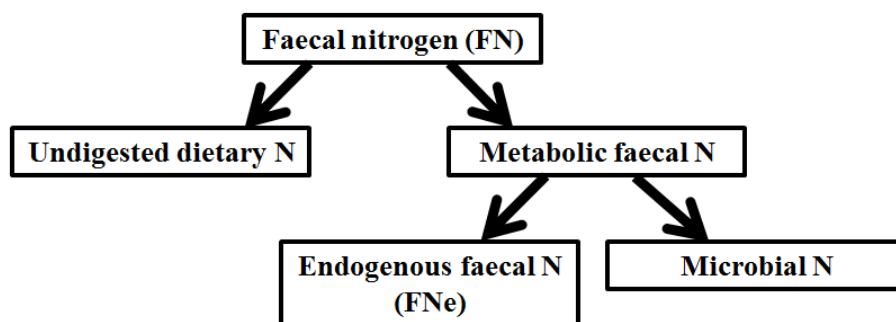


Figure 1: Differentiation of faecal nitrogen (FN)

Table 2: Requirements of utilisable crude protein according to their milk yield (adapted from GfE 2001, modified)

Milk yield g/d	Intake		Requirements of utilisable crude protein	
	DMI ^a kg/d	ME ^b (MJ/d)	g/d	g/kg DM ^c
10	12.5	120	1230	98
15	14.5	145	1650	114
20	16.0	170	2050	128
25	18.0	195	2460	137
30	20.0	220	2880	144
35	21.5	240	3280	153
40	23.0	265	3680	160
45	24.5	290	4080	167
50	26.0	315	4480	172

Notes: ^aDMI, Dry matter intake (kg/d); ^bME, Metabolisable energy (MJ/d); ^cDM, Dry matter.

CHAPTER 2

Scope of the thesis

This thesis comprising three separate publications examines approaches to improving the efficiency of N utilisation in dairy cows.

An overview presentation (Chapter 3) provides an introduction to the overall topic of N, protein and AA metabolism in dairy cows and contextualises approaches to CP reduction in practical ration design with a review of relevant literature.

This is aimed at identifying the extent to which CP reduction is practically feasible and the significance of RPAA supplementation, above all Met and Lys, in this context. This part also critically examines the predictive accuracy of existing regression equations for calculating Met and Lys requirements with particular reference to existing imprecisions in the quantification or estimation respectively of the relevant intermediary utilisation of individual AA.

Based on protein reduction considerations, the thesis then proceeds to deriving minimally possible N concentrations without provoking ruminal N deficiencies (Chapter 4), initially from a purely deductive basis from data in relevant literature and its evaluation and reappraisal. The specific differentiation of N losses into obligatory losses and those than can be influenced via NI provides the basis for the subsequent derivation of N and CP feeding recommendations in dairy cow rations.

From this basis, it is hypothesised that FN and UNUN can be assumed to be obligatory for these derivations, while UN and UUN can be assumed to be regulatory.

Statistical verification through meta-analysis is performed to demonstrate that the assumptions derived in the earlier parts of this thesis and the resulting derivations of minimal N concentrations in feeds for delivering stable N balances stand up to statistical analysis (Chapter 5).

Accordingly, the hypothesis of obligatory and regulatory faecal and urinary N excretions needs to be statistically verified.

The main parts of this thesis, namely Chapter 3 to 5 are presented according to the layout of the publishing journal.

CHAPTER 3

Pansengeschützte Aminosäuren in der Milchkuhfütterung unter besonderer Berücksichtigung von Methionin und Lysin

Rumen-protected amino acids for dairy cows – emphasis on methionine and lysine

J. Schuba^{a*} and K.-H. Südekum^{b*}

^aInstitute of Agricultural and Nutritional Science, University of Halle-Wittenberg

^bInstitute of Animal Science, University of Bonn

*e-mail: Jan.Schuba@deutsche-tiernahrung.de, ksue@itw.uni-bonn.de

Published in *Übersichten zur Tierernährung* (2012) 40: 113 – 149.

Reprinted with permission.

ÜBERS. TIERERNÄHRG. **40** (2012), 113 - 149

**PANSENGESCHÜTZTE AMINOSÄUREN IN DER
MILCHKUHFÜTTERUNG UNTER BESONDERER
BERÜCKSICHTIGUNG VON METHIONIN UND LYSIN**

*RUMEN-PROTECTED AMINO ACIDS FOR DAIRY COWS – EMPHASIS ON
METHIONINE AND LYSINE*

von/by

J. Schuba¹ und K.-H. Südekum²

GLIEDERUNG

- 1 Einleitung
- 2 Protein- und Aminosäurenstoffwechsel der Milchkuh
- 2.1 Ruminale Rohproteinabbau
- 2.2 Ruminale mikrobielle Rohproteinsynthese
- 2.3 Ruminale unabgebautes Rohprotein
- 2.4 Limitierung der Leistung durch Aminosäuren
- 3 Intermediäre Verwertung von Aminosäuren
- 3.1 Milchproteinsynthese
- 3.2 Gluconeogenese
- 3.3 Einfluss von Methionin auf den Fettstoffwechsel der Kuh
- 4 Supplementierung von (pansengeschützten) Aminosäuren
- 4.1 Allgemeines
- 4.2 Methionin
- 4.2.1 Pansengeschütztes, ummanteltes DL-Methionin
- 4.2.2 Andere Met-Verbindungen/-quellen
- 4.2.3 Vergleich der verschiedenen Met-Verbindungen
- 4.3 Lysin (insbesondere pansengeschützte Produkte)
- 5 Reduktion des Rohproteinniveaus und Aminosäuren-Bilanzierung
- 6 Kalkulationsmodelle: Aminosäurenbedarf und -versorgung
- 7 Fazit
- 8 Schrifttum

¹ Jan Schuba, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Theodor-Lieser-Str. 11, 06120 Halle (Saale), 0345-552-2700; E-mail: Jan.Schuba@deutsche-tiernahrung.de

² Prof. Dr. Karl-Heinz Südekum, Institut für Tierwissenschaften, Universität Bonn, Endenicher Allee 15, 53115 Bonn, 0228-73-2287; E-mail: ksue@itw.uni-bonn.de

SUMMARY

The duodenal flow of essential amino acids (EAA) primarily depends on the efficiency of rumen microbial protein synthesis. Once the capacity of the energy-dependent microbial synthesis is exhausted, additional amounts of EAA flowing into the small intestine can only be supplied by specifically treated, rumen-protected (RP) protein feeds or RPAA. Type and intensity of the treatment of, e.g., rapeseed and soybean meal can have a significant impact on the AA flow into and the absorption from the small intestine. Therefore, an evaluation of rumen-protection technologies should include estimates of both, rumen degradation and intestinal absorbability.

Rumen-protected AA (RPAA) can be produced from different engineering processes and technologies. Coated Met (CM) and Lys (CL), e.g., as pH-sensitive polymer (2-vinyl pyridine-co-styrene) in combination with stearic acid, and 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic-acid-isopropyl-ester (HMBi) as Met precursor have frequently been shown to be effective to improve Met supply of dairy cows. Opposed to that, 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic-acid (HMB) could not increase Met supply to dairy cows. Higher milk protein yield, sometimes paralleled by an increase in milk yield, in response to RPAA supplementation was frequently observed when rations were based on maize silage. However, moist maize silages (pH < 4) and diets containing large amounts of rapidly fermentable carbohydrates may compromise rumen protection and thus, lower supply of absorbable Met and Lys.

Met and Lys have been identified frequently as first- and second-limiting AA for milk protein synthesis in maize- and barley-based rations which additionally contained maize gluten (feed), dried distillers grain with solubles or brewers grain. When rations were based on grass or grass silage, histidine additionally limited performance. Some current protein evaluation systems for dairy cows already allow calculating requirements for and supply of limiting AA. The German protein evaluation system for dairy cows (utilisable crude protein at the duodenum, uCP) is open to include specifically the Met and Lys supply without changing the basic structure of the system.

The major weakness in the design of all AA systems for dairy cows is the postabsorptive utilization of absorbed AA. Met can not only serve as substrate for ketone body formation, gluconeogenesis and (milk) protein synthesis, but may also provide methyl groups for other syntheses. Therefore, reliable quantitative estimates of Met allocation to the different pathways depending on physiological status and performance level are the key challenge for progress in protein evaluation systems into AA evaluation systems. More intensive research in this area is warranted as advances will contribute to an improved N economy in dairy cows.

Keywords: *amino acid, rumen-protected, methionine, lysine, HMBi, HMB, absorption, milk protein*

ZUSAMMENFASSUNG

Die am Dünndarm des Wiederkäuers anflutende Menge an essentiellen Aminosäuren (essential amino acids, EAA) ist primär von der Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese abhängig. Ist die Kapazität der energieabhängigen mikrobiellen Synthese ausgeschöpft, kann eine Erhöhung der Menge an EAA, die in den Dünndarm gelangt und dort absorbiert wird, nur durch höhere Anteile von pansenstabilem Futterprotein oder durch pansengeschützte EAA erfolgen. Hierzu werden entweder technisch behandelte pflanzliche Proteinträger oder vor ruminalem Abbau geschützte AA verwendet. Die Art der futtertechnologischer physikalischer Behandlung von z. B. Raps- oder Sojaextraktionsschrot hat einen

SCHUBA u. SÜDEKUM

entscheidenden Einfluss auf die AA-Anflutung im und AA-Absorption aus dem Dünndarm. Eine Bewertung von Verfahren zum Protein- oder AA-Schutz vor ruminalem Abbau sollte zukünftig neben der ruminalen Beständigkeit auch die Absorbierbarkeit der AA im Dünndarm mit einbeziehen.

Pansengeschützte AA (rumen-protected amino acids, RPAA) werden durch unterschiedliche technische Verfahren hergestellt. Ummanteltes (C = coated) Met (CM) und Lys (CL), etwa in Form eines pH-sensitiven Polymers (2-Vinyl-Pyridin-Co-Styren) in Kombination mit Stearinsäure, und der Isopropylester der Hydroxy-Methylthio-Butansäure (HMBi) als Met-Vorstufe haben sich dabei als effektive, biologisch verfügbare AA oder (HMBi) Met-Vorstufe erwiesen. Dagegen stellt Hydroxy-Methylthio-Butansäure (HMB) keine geeignete Met-Quelle für die Milchkuh dar. Eine Steigerung der Milchproteinmenge, teilweise auch der Milchmenge, durch RPAA wurde bislang vor allem bei maissilagebetonten Rationen beobachtet. Es darf jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass feuchte Maissilagen mit pH-Werten von <4 und Rationen mit hohen Anteilen an leicht fermentierbaren Kohlenhydraten, die kurzfristig niedrige Pansen-pH-Werte zur Folge haben, den Pansenschutz durch pH-sensitive Polymere und dadurch auch die intermediäre Bereitstellung von Met und Lys beeinträchtigen können.

Bei mais- bzw. gerstebetonten Rationen, die zusätzlich Maiskleber(futter), Getreideschlempe oder Biertreber enthalten, ist Met in der Regel die erstlimitierende AA für die Milchproteinsynthese und Lys zweitlimitierend. Bei gras- und grassilagebetonten Rationen wirkt Histidin zusätzlich leistungsbegrenzend. Derzeitige Proteinbewertungssysteme für Milchkühe enthalten teilweise bereits Erweiterungen, mit denen der Bedarf und die Versorgung für limitierende AA kalkuliert werden können. Auch das deutsche Proteinbewertungssystem (nutzbares Rohprotein am Duodenum, nXP) kann – unter Beibehaltung der grundsätzlichen Systemstruktur – ebenfalls um Met und Lys und gegebenenfalls um weitere AA ergänzt werden.

Wesentlicher Schwachpunkt aller bisherigen Ansätze zur näheren Charakterisierung des AA-Bedarfs von Milchkühen ist die unterschiedliche intermediäre Verwertung der AA. Da beispielsweise Met ketogen, glukogen und für die (Milch-)Proteinsynthese sowie als Methylgruppendonator genutzt werden kann, ist eine quantitative Einschätzung der Aufteilung von Met auf die möglichen Stoffwechselwege in Abhängigkeit von der jeweiligen Stoffwechsellaage und dem Leistungsniveau die zentrale Herausforderung für die Weiterentwicklung eines jeden Proteinbewertungssystems zu einem AA-Bewertungssystem. Aus Sicht der Autoren ist es lohnend, Forschungsarbeiten zu dieser Thematik zu intensivieren, weil diesbezügliche Fortschritte zu einem effizienteren N-Einsatz bei Milchkühen führen würden.

Schlüsselwörter: Aminosäuren, pansengeschützt, Methionin, Lysin, HMBi, HMB, Absorption, Milchprotein

ABKÜRZUNGEN (Abkürzungen, die ausschließlich in Tabellen oder Abbildungen benutzt werden, sind hier nicht aufgeführt; für die Aminosäuren wird der gebräuchliche Dreibuchstaben-Code ohne weitere Erläuterung benutzt)

AA = Aminosäure(n) (amino acid(s))	NEFA = non esterified fatty acids - nicht veresterte Fettsäuren
BHB = β -Hydroxy-Butyrat	NEL = Nettoenergie-Laktation
CL = coated lysine (ummanteltes Lys)	NH ₃ = Ammoniak
CM = coated Met (ummanteltes Met)	NPN = Nicht-Protein-Stickstoff
CNCPS = Cornell Net Carbohydrate and Protein System	nXP = nutzbares Rohprotein am Duodenum
EAA = essentielle AA	PDI = im Dünndarm verdauliches Protein (protéines digestible dans l'intestin)
ECM = energiekorrigierte Milchmenge (energy-corrected milk)	RNB = ruminale Stickstoff-Bilanz
HMB = Hydroxy-Methylthio-Butansäure	RP = vor ruminalem Abbau geschützt (rumen-protected)
HMBi = Isopropylester der Hydroxy-Methylthio-Butansäure	RPAA = vor ruminalem Abbau geschützte Aminosäure(n) (rumen-protected AA)
ME = umsetzbare Energie	TM = Trockenmasse
MHA = Methionin-Hydroxy-Analog (HMB)	UDP = ruminal unabgebautes Rohprotein (rumen-undegradable protein)
MP = umsetzbares Protein (metabolizable protein)	VLDL = Lipoproteine sehr geringer Dichte (very low density lipoproteins)
N = Stickstoff	XP = Rohprotein
NAD = Nicotinamidenindinukleotid	
NEB = negative Energiebilanz	

1 EINLEITUNG

Die generelle Ausrichtung der Proteinversorgung der landwirtschaftlichen Nutztiere auf eine möglichst exakt den Bedarf deckende Zufuhr mit Rohprotein (XP), N bzw. Aminosäuren (amino acids, AA) gewann Anfang der 90er Jahre zunehmend an Interesse, und zwar vor dem Hintergrund der möglichen Auswirkungen auf die Umwelt, insbesondere durch Stickstoff und Phosphor (SPIEKERS u. PFEFFER 1991).

Die Fortschritte im Bereich der Tierzucht, der Haltung und des Managements, verbunden mit neuen Erkenntnissen zur bedarfs- und leistungsgerechten Fütterung, haben in den letzten sechzig Jahren zu einer deutlichen Steigerung der Milchleistung von Kühen geführt, wie unter anderem von BREVES und RODEHUTSCORD (1999) sowie VON ENGELHARDT und BREVES (2010) zusammenfassend erläutert wurde. Dies zeigt sich vor allem in einem starken Anstieg der Laktationsleistung, während die Lebensleistung der Milchkuh – bedingt durch eine reduzierte Nutzungsdauer – nahezu gleich blieb. Anders als bei monogastrischen Spezies gab es bis zu Beginn der 1980er Jahre wenig Interesse, essentielle, die Milchleistung möglicherweise limitierende Aminosäuren in der Proteinversorgung der Milchkuh gezielt zu berücksichtigen. Seit etwa dieser Zeit ist jedoch ein wachsendes Interesse zu beobachten. Begründet ist dies im beschriebenen Anstieg der Milchleistung pro Laktation und in einer zunehmenden, ökonomisch begründeten Fokussierung auf den Milchproteingehalt (SCHWAB et al. 1992).

Protein ist einer der elementaren und bezüglich der Milchleistung limitierenden Nährstoffe in Rationen laktierender Milchkühe (KOENIG u. RODE 2001). Die bedarfsgerechte Proteinversorgung des Rindes geht jedoch über die alleinige Kalkulation des XP-Gehaltes in

SCHUBA u. SÜDEKUM

der Ration hinaus und wird in Proteinbewertungssystemen für Milchkühe anhand verschiedener Kenngrößen abgeleitet (z. B. GfE 2001; INRA 1989). Im deutschen Proteinbewertungssystem wird die Versorgung der laktierenden Milchkühe mit nutzbarem XP am Duodenum (nXP) formuliert, das im Wesentlichen die Summe des im Pansen mikrobiell synthetisierten XP und des in den Vormägen des Rindes nicht abgebauten Futter-XP darstellt. Eine Ableitung des Bedarfs und der Versorgungsempfehlungen für (limitierende) EAA erfolgt im nXP-System bisher nicht. Es wurde jedoch schon verschiedentlich postuliert, dass eine effiziente Verwertung qualitativ hochwertiger AA-Lieferanten, wie z. B. vor ruminalem Abbau geschützte pflanzliche Eiweißfuttermittel, unter Beachtung von AA-Bilanzierungen und/oder einer Reduktion des XP-Niveaus der Rationen durch eine Ergänzung mit pansengeschützten AA (rumen-protected amino acids, RPAA) erreicht werden könnte.

Eine ausreichende AA-Versorgung wird in den meisten Rationstypen mit einer Zulage an nXP sichergestellt. Diese Zulage ist je nach Rationstyp so gestaltet, dass die Proteinversorgung für zwei bis vier Liter mehr Milchleistung ausgelegt ist, als auf Basis der Energieversorgung (MJ Nettoenergie-Laktation, NEL) durch die Ration produziert werden kann. Dieses „Vorhalten“ hat seine Berechtigung für den Fall, dass – insbesondere zu Laktationsbeginn – eine Milchbildung aus Energiereserven (Fettmobilisierung) der Kuh erfolgt, wobei dann in der Ration mehr an nXP erforderlich ist als an Energie (NEL). Ansonsten führt dieses Vorgehen zu einer überschüssigen N-Aufnahme, die mit einer zusätzlichen, d. h. unnötigen/vermeidbaren NH_3 -Bildung verbunden ist.

Die damit einhergehende überschüssige Stickstoff (N)-Aufnahme, sorgt für eine zusätzliche Bildung von Ammoniak (NH_3 ; KIRCHGESSNER 1997). Dieses Vorgehen zieht negative Begleiterscheinungen bezüglich der Tiergesundheit, der Ökonomik der Milchproduktion und der N-Verluste bzw. deren Eintrag in die Umwelt nach sich (COENEN 1996; YANG et al. 2010).

Das Bestreben muss es demnach sein, mit möglichst geringem XP-Aufwand den AA-Bedarf der laktierenden Milchkühe zu decken bzw. diesem möglichst treffend und in Bezug auf die Gesamt-N-Effizienz der Ration verlustminimierend nahe zu kommen. Je näher die im Dünndarm absorbierbaren AA dem zur Milchproteinsynthese benötigten AA-Profil kommen, desto effizienter kann die Milchproteinsynthese ablaufen und desto effizienter ist grundsätzlich die N-Nutzung der Milchkühe. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass AA auch für andere Zwecke als für die Proteinsynthese im Stoffwechsel benötigt und genutzt werden können. Wie weiter unten noch ausgeführt wird, ist bei Wiederkäuern insbesondere die Gluconeogenese aus Aminosäuren ein wichtiger, aber schwierig zu quantifizierender alternativer Nutzungsweg für AA.

2 PROTEIN- UND AMINOSÄURENSTOFFWECHSEL DER MILCHKÜHE

2.1 RUMINALER ROHPROTEINABBAU

Der im Pansen vorliegende Stickstoff wird mit den Futter-N-Verbindungen aufgenommen oder gelangt durch den ruminohepatischen Kreislauf in den Pansen. Das Futterprotein wird im Pansen durch Enzyme mikrobiellen Ursprungs zu Oligo- und Dipeptiden sowie zu freien AA abgebaut. In großem Umfang erfolgt eine Reduktion der Aminogruppen zu Ammonium (NH_4^+). Dies gilt auch für andere Nicht-Protein-N-Verbindungen (NPN) wie etwa Harnstoff (s. Abb. 1).

Auch die NPN-Verbindungen dienen in reduzierter Form als NH_4^+ den Pansenbakterien zum Aufbau von Mikrobenprotein. Pansenbakterien inkorporieren demnach NH_4^+ , AA oder

Peptide in mikrobielles Protein oder fermentieren und nutzen diese als Energiequelle (NOCEK u. RUSSELL 1988). Der ruminale Abbau von Protein und Kohlenhydraten über die Pansenbakterien ist in Abbildung 2 zusammenfassend dargestellt. Hier wird auch die weitere Verwendung der energiereichen (ADP, ATP, NAD) und N-haltigen (NH₃) Produkte zum Aufbau der Carboxy- und Aminogruppen der AA ersichtlich. Der ruminale XP-Abbau der einzelnen (Protein-)Futtermittel variiert jedoch stark, dementsprechend werden je nach Futtermittel und analytischer Methode unterschiedliche Anteile an pansenstabilem oder unabgebautem XP (undegradable protein, UDP) dokumentiert.

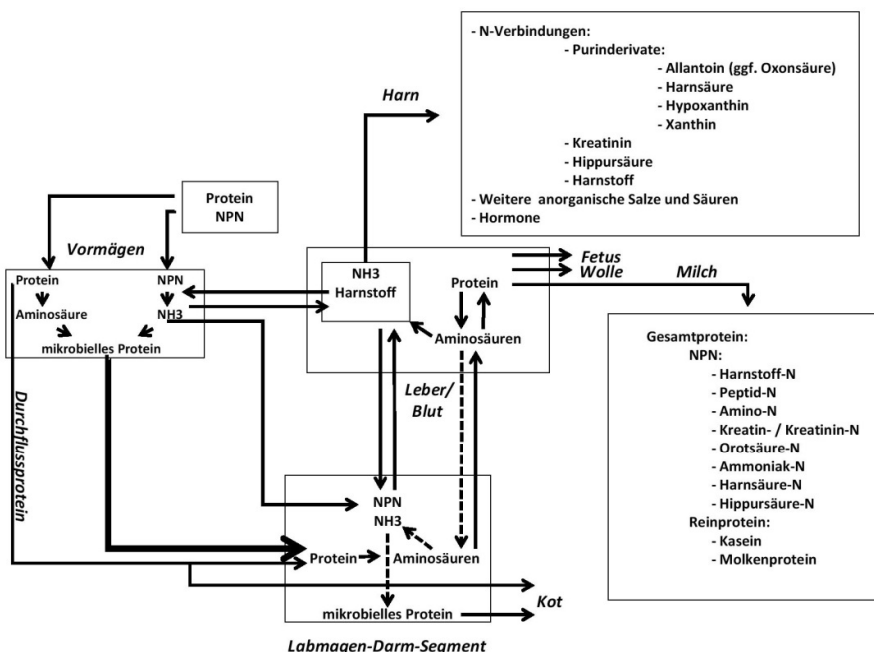


Abbildung 1: Schema des Protein- und N-Umsatzes im Verdauungstrakt des Wiederkäuers (modifiziert nach JEROCH et al. 1999)

Figure 1: Scheme of protein and N transfer in the gastro-intestinal tract of ruminants (according to JEROCH et al. 1999, modified)

2.2 RUMINALE MIKROBIELLE ROHPROTEINSYNTHESE

Weitere N-Quellen zum Aufbau von Mikroben-XP stellen über die Pansenwand rezirkulierter Harnstoff (s. Abb. 1) und andere endogene N-Verbindungen, wie abgeschilferte Epithelzellen und Mucoproteine (Speichel!) dar (VON ENGELHARDT u. BREVES 2010). Über die Differenz von XP und nXP kann, unter Berücksichtigung des Faktors 6,25 (100/16 = 6,25, Protein enthält durchschnittlich 16 % N) die ruminale Stickstoffbilanz (RNB) berechnet werden (GfE 2001). Die RNB dient als Kennwert zur N-Versorgung der Pansenmikroorganismen und gleichzeitig als wichtige Größe zur Bewertung der möglichen Effizienz des mikrobiellen N-Umsatzes. Die mikrobielle Proteinsynthese hängt also – neben der

SCHUBA u. SÜDEKUM

Energieversorgung der Pansenmikroben – vom ruminal verfügbaren N ab (CLARK et al. 1992). NOCEK und RUSSELL (1988) zeigten hierzu bereits früher, dass es z. B. bei extrem hohen UDP-Anteilen (> 70 % des XP) zu einer N-Unterversorgung der Pansenmikroben kommen kann. Ebenso können bei sehr hohen Anteilen an dem im Pansen abbaubaren XP trotz ausreichender Kohlenhydrat-(Energie)-Versorgung der Pansenmikroben massive N-Verluste auftreten ($\text{NH}_3 \rightarrow \text{Harnstoff} \rightarrow \text{renale N-Abgabe}$).

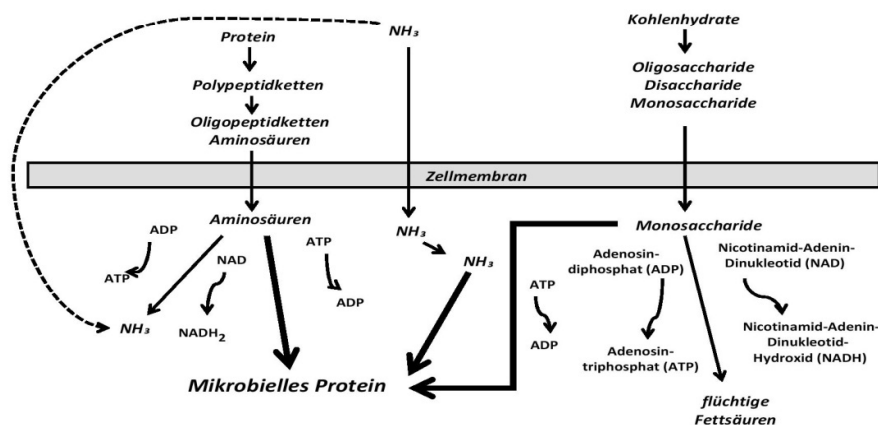


Abbildung 2: Protein- und Kohlenhydratverwertung der Pansenbakterien (modifiziert nach NOCEK u. RUSSELL 1988)

Figure 2: Utilisation of protein and carbohydrate by rumen bacteria (according to NOCEK and RUSSELL 1988, modified)

Die EAA-Gehalte des im Dünndarm verdaulichen mikrobiellen Proteins sind nach übereinstimmenden Angaben umfangreicher Literaturlauswertungen (JOCHMANN et al. 1996; RULQUIN et al. 2001) relativ konstant. Sie zeigen bezüglich Met und Lys ein Muster, das dem AA-Profil des Milchproteins nahe kommt (s. auch Tab. 1). Jedoch wurde von anderen Autoren in Frage gestellt, ob diese Konstanz des Aminosäurenmusters im mikrobiellen Protein auch bei hohen Passageraten, d. h. sehr hohen Futteraufnahmen, erhalten bleibt (LEBZIEN 1997; SÜDEKUM 2002). Unbestritten ist jedoch, dass Umfang und Effizienz der mikrobiellen Proteinsynthese die wesentlichen Faktoren für die Menge an EAA darstellen, die in den Dünndarm gelangen.

Wenn die Kapazität zur mikrobiellen Synthese ausgeschöpft ist, kann eine weitere Erhöhung der EAA-Menge im Dünndarm nur durch pansengeschützte EAA erfolgen, in der Regel entweder in Form von gezielt behandelten Proteinfuttermitteln oder RPAA. Eine Erhöhung des UDP-Anteils am XP führt jedoch nicht immer zu einer Erhöhung der intestinalen AA-Versorgung, da die Futtermitteltechnologie auch zu einem reduzierten ruminalen Abbau und der Fermentation von Kohlenhydraten führen kann, wodurch auch die mikrobielle Proteinsynthese gemindert würde. Im Ergebnis würde dann der erhöhte AA-Fluss im UDP in den Dünndarm durch eine Reduzierung der mikrobiellen AA aufgehoben (CLARK et al. 1992; OVERTON et al. 1996; PIEPENBRINK et al. 1996). Deshalb ist bei der Rationsgestaltung zu beachten, dass sich mit jedem Austausch von Proteinquellen in einer

Ration sowohl das ruminal abbaubare XP als auch das UDP und die fermentierbare organische Substanz verändern können. Deshalb beeinflusst die gesamte Ration mit ihren XP- und Kohlenhydratfraktionen das Profil der aus dem Dünndarm absorbierbaren AA und hat somit ebenso einen Einfluss auf z. B. den Milchproteingehalt, auch dann, wenn Rationen mit RPAA, z. B. Met supplementiert werden (OVERTON et al. 1998).

Das mikrobiell synthetisierte Protein ist in Bezug auf das Profil der EAA dem für Körperwachstum und Milchproteinproduktion beim Milchrind ähnlich und stellt den größten Anteil (60 % - 80 %; BERGNER et al. 1980) des Proteins, das in den Dünndarm gelangt (ROBINSON 2010). Mit steigender Milchleistung und Futteraufnahmemenge nehmen diese Anteile ab. Pansenmikroben stellen demnach eine hochwertige Proteinqualität, d. h. ein hochwertiges AA-Muster bereit, wobei die Protozoen höhere Lys- und geringere Met-Gehalte als die Pansenbakterien aufweisen (s. Tab. 1).

2.3 RUMINAL UNABGEBAUTES ROHPROTEIN

Mit höherer Milchleistung wird ein höherer Anteil an UDP am nXP erforderlich, da die mikrobielle Proteinsynthese nicht mehr als alleinige Quelle zur bedarfsdeckenden nXP-Versorgung ausreicht. Dennoch hängt die XP- und nXP-Versorgung des Wiederkäuers hauptsächlich von der Effizienz der mikrobiellen Proteinversorgung ab (60 - 100 % Mikroben-XP am nXP in Abhängigkeit vom Leistungsniveau). Das nXP errechnet sich nach GfE (2001) über die Gleichung Nr. 9 wie folgt (ME, metabolizable energy, umsetzbare Energie):

$$\text{nXP (g/kg TM)} = [11,93 - (6,82 \times (\text{UDP} / \text{XP}))] \times \text{ME} + 1,03 \times \text{UDP}$$

Da mit steigender Milchleistung die Anforderungen an die ruminale Proteinbeständigkeit und somit an die Proteinqualität im Futtermittel steigen, kommen verstärkt Proteinfuttermittel mit hohen UDP-Gehalten zum Einsatz (KOENIG u. RODE 2001). Allgemein weisen Futtermittel, die in der Wiederkäuerfütterung verwendet werden, untereinander und auch zwischen den einzelnen Tabellenwerken deutliche Differenzen in ihrer ruminalen Abbaubarkeit bzw. im UDP-Anteil am XP auf. Exemplarisch zeigt Tabelle 2 typische Werte für eine Reihe von Proteinfuttermitteln. Proteinfuttermittel mit hohen nativen Gehalten an UDP (Fischmehl) bzw. hohen nativen Gehalten an RPLys (Blutmehl) sind in der EU nicht für die Wiederkäuerfütterung zugelassen und stellen deshalb derzeit keine Alternative zu pflanzlichen Proteinfuttermitteln dar (ANONYM 2001; KOENIG u. RODE 2001). Zudem differiert besonders Blutmehl aufgrund unterschiedlicher Verarbeitungsverfahren stark in den UDP-Anteilen und Verdaulichkeiten des UDP im Dünndarm (BOUCHER 2009). Somit stehen zur Steigerung der AA-Menge im Dünndarm lediglich behandelte pflanzliche Eiweißfuttermittel oder RPAA zur Verfügung. Von praktischer Bedeutung sind vor allem solche pflanzlichen Proteinträger, die bereits einen hohen originären Gehalt an Lys bzw. Met aufweisen. Als Bewertungsmaßstab für die Qualität des AA-Musters der Futtermittel kann zunächst das AA-Muster der Milch angenommen werden (s. auch Tab. 1).

SCHUBA u. SÜDEKUM

Tabelle 1: Ein Vergleich der Profile an essentiellen Aminosäuren von Körpergewebe und Milch mit denen von Bakterien und Protozoen sowie gebräuchlichen Futtermitteln (Zusammenstellungen von LEBZIEN 1997^a; FOX et al. 2004^b; alle anderen Angaben: DEGUSSA 2001)

Table 1: A comparison of the essential amino acid profiles of lean body tissue, milk protein, ruminal bacteria and protozoa, and common feedstuffs (data from literature surveys by LEBZIEN 1997^a; FOX et al. 2004^b; all other values: DEGUSSA 2001)

Anteil AA am Protein % oder AA/100 g XP	Lys	Met	His	Ile
Tierische Produkte				
Mageres Körpergewebe ^b	6,37 (100) ¹	1,97 (30,9)	2,47 (38,8)	2,84 (44,6)
Milchprotein ^b	7,62 (100)	2,71 (35,6)	2,74 (36,0)	5,79 (76,0)
Blutmehl (89,5 % XP)	8,88 (100)	1,26 (14,2)	6,04 (68,0)	1,23 (13,9)
Fischmehl (63,7 % XP)	7,33 (100)	2,73 (37,4)	2,64 (36,2)	4,04 (55,3)
Mikrobenprotein ^a	7,90 (100)	2,60 (32,9)	2,00 (25,3)	5,70 (72,2)
Getreide				
Gerste (11,4 % XP)	3,44 (100)	1,64 (47,6)	2,17 (63,1)	3,36 (98,8)
Mais (7,8 % XP)	3,01 (100)	2,20 (73,1)	2,71 (90,0)	3,29 (109)
Weizen (13,0 % XP)	2,68 (100)	1,54 (57,4)	2,26 (84,3)	3,28 (122)
Pflanzliche Proteinfuttermittel				
Biertreber, getrocknet (24,1 % XP)	3,77 (100)	1,90 (50,4)	2,10 (55,7)	4,21 (112)
Maiskleberfutter (19,9 % XP)	1,60 (100)	5,5 (344)	4,7 (294)	9,3 (581)
Trockenschlempe (27,1 % XP)	2,28 (100)	1,80 (78,9)	2,23 (97,8)	3,54 (155)
Rapsextraktionsschrot (35,8 % XP)	5,32 (100)	1,99 (37,4)	2,58 (48,5)	3,83 (73,2)
Sojaextraktionsschrot (44,5 % XP)	6,03 (100)	1,34 (22,2)	2,64 (43,8)	4,53 (75,1)

¹in Klammern: Relativzahlen

Tabelle 2: Anteile an ruminal nicht abbaubarem Protein (% des Rohproteins) verschiedener Protein-futtermittel (UNIVERSITÄT HOHENHEIM – DOKUMENTATIONSSTELLE 1997)
 Table 2: Content of ruminally undegradable protein (% of crude protein) of different protein feeds (UNIVERSITÄT HOHENHEIM – DOKUMENTATIONSSTELLE 1997)

	% UDP am XP
Pflanzliche Proteinträger	
Maiskleberfutter	25
Sojaextraktionsschrot	30 ¹
Rapsextraktionsschrot	35 ¹
Getreidetrockenschlempe	40-50
Biertreber	40
Lupine	20
Sonnenblumenextraktionsschrot	25
Tierische Eiweißträger	
Fischmehl	40-60

¹ Auf Basis umfangreicher Versuchsergebnisse wurden diese Werte gegenüber der DLG-Tabelle modifiziert (SPIEKERS et al. 2012).

Jedoch setzt diese Annahme voraus, dass die absorbierten AA nahezu vollständig zur Milchproteinsynthese verwendet werden. Selbst wenn – etwa für mehrkalbige, hochleistende Milchkühe – der Umfang der intermediären AA-Nutzung für die Erhaltung und Gewebebildung als gering angenommen würde, kann die Nutzung von AA für die Gluconeogenese nicht unberücksichtigt bleiben (s. 3.2).

Die in Tabelle 1 und 2 enthaltenen Daten unterstützen die Schlussfolgerung, dass es nahezu unmöglich ist, mittels einer einzigen Komponente als Quelle für UDP das optimale Verhältnis von EAA für die Milchproteinsynthese bereitzustellen (ROBINSON et al. 2010). Somit muss – besonders in der Fütterung von Hochleistungskühen – meist eine Kombination empfohlen werden. Dies scheint insbesondere bei verstärktem Einsatz von Schlempen zutreffend zu sein, weil dort eine (noch) größere Variabilität der Proteinqualität als bei anderen Proteinfuttermitteln beobachtet wird, was sich sowohl auf die UDP-Anteile als auch auf hitzebedingte Verminderungen des Lys-Gehalts auswirken kann (TIEFENTHALLER 2007; HIPPENSTIEL et al. 2012). Hauptursache dieser erheblichen Unterschiede im UDP-Gehalt ist die Vielfalt der verwendeten Ausgangskomponenten (Mais, Weizen, Rübenmelasse etc.) sowie deren unterschiedliche Behandlung/Gewinnung.

Zur technischen Behandlung von pflanzlichen Proteinträgern gibt es diverse chemische und physikalische Verfahren. Die chemische Bearbeitung vor allem von Soja- und Rapsextraktionsschroten erfolgt hauptsächlich durch Behandlungen mit Xylose aus Lignosulfonaten oder mit Formaldehyd. JOCHMANN et al. (1997) geben einen Überblick zu den angewandten Verfahren. Der Einsatz von Xylose zeigte bei steigender Dosierung (von 10 g/kg TM auf 30 g/kg TM) positive Effekte auf die intestinale Proteinverdaulichkeit bei Baumwollsaatextraktionsschrot, jedoch eine Beeinträchtigung bei Sojaextraktionsschrot

SCHUBA u. SÜDEKUM

(CAN et al. 2011). Demnach muss bei gezielter Reduzierung des ruminalen XP-Abbaus auch bzw. gerade die Verdaulichkeit des UDP im Dünndarm kritisch geprüft beziehungsweise geschätzt werden (HARSTAD u. PRESTLØKKEN 2000).

Eine solche Abschätzung kann auch aus der chemischen XP-Fraktionierung erfolgen (s. Tab. 3), die primär zur Schätzung von UDP-Anteilen genutzt wurde (SHANNAK et al. 2000). Zusätzlich kann aber ein Anstieg der C-Fraktion (in Säure-Detergenzien unlösliche N-Verbindungen) als Indikator einer Proteinschädigung und/oder einer verringerten Verdaulichkeit des UDP im Dünndarm von Wiederkäuern genutzt werden. Dieses Merkmal ist jedoch nicht für alle Konzentratfüttermittel gleich gut geeignet wie für Ölsaatenprodukte (s. SÜDEKUM 2004).

Durch die thermische Behandlung von pflanzlichen Proteinträgern entstehen Bindungen der Zucker-Carbonylgruppen mit den freien AA der Proteine in einer Maillardreaktion (VAN SOEST 1994) sowie Peptidverbindungen zu Aspargin und Glutamin. Diese thermisch verursachten Peptidbindungen zeigen eine hohe Beständigkeit gegenüber der ruminalen enzymatischen Hydrolyse. Je umfangreicher es zu Maillardreaktionen kommt, desto eher ist ein Verlust und eine fortschreitende Destruktion des Lys zu erwarten (JOCHMANN et al. 1996; BOUCHER 2009). Bei der Extrusion wird zusätzlich zum thermischen Effekt die physikalische Struktur des Materials durch Scherkräfte verändert, wodurch der enzymatische Nährstoffabbau sogar erleichtert und damit eher gesteigert wird (KERSTEN et al. 2010). Die Beständigkeit der thermisch erzeugten Bindungen muss jedoch immer in Bezug zur Proteinlöslichkeit gesehen werden, da eine Verschiebung zur Proteinfraction C hin (s. Tab. 3) einen mehr oder weniger vollständigen Proteinverlust für das Tier bedeuten würde. Nach zu intensiver thermischer Behandlung wird besonders die reduzierte Verfügbarkeit der EAA Lys, Met, aber auch Cys beschrieben (VAN SOEST 1994).

Tabelle 3: Die chemische Fraktionierung des Rohproteins von Futtermitteln für Wiederkäuer (LICITRA et al. 1996)

Table 3: Chemical fractionation of the crude protein of feedstuffs for ruminants (LICITRA et al. 1996)

Fraktion	Abbaubarkeit (\rightarrow NH ₃)	Chemische Charakterisierung
A	Ruminal sehr schnell abbaubar zu NH ₃	Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) (Harnstoff, Peptide, AA)
B1	Ruminal schnell abbaubar zu NH ₃	Reinprotein
B2	Ruminal nahezu vollständig abbaubar	Reinprotein
B3	Ruminal langsam, nicht vollständig abbaubar	Zellwandgebundenes Reinprotein
C	Ruminal nicht abbaubar, intestinal nicht verfügbar	An Lignin, Tannin oder in Maillardprodukten gebundenes Protein

2.4 LIMITIERUNG DER LEISTUNG DURCH AMINOSÄUREN

Umfangreiche Studien in den 60er und 70er Jahren des 20. Jahrhunderts an Schafen und Milchkühen waren bereits der Frage gewidmet, welche Aminosäuren je nach Produktionsprozess (Milch, Fleisch, Wolle, Haar) und Rationstyp die Proteinsynthese begrenzen könnten. Der Begriff der „limitierenden“ AA wurde dabei in dem Sinn verwendet, wie ihn später z. B. RULQUIN et al. (2001) definierten: „Die Proteinproduktion (Milch, Fleisch, Wolle, Haar) des Wiederkäuers kann durch eine unzureichende Versorgung mit einzelnen AA begrenzt sein, die deshalb als limitierende AA bezeichnet werden.“ Um herzuleiten, welche AA für die Milchleistung oder Milchproteinsynthese limitierend sind, müssen präzise Kenntnisse über die AA-Gehalte des Futters (und deren ruminaler Abbau), des Mikrobenproteins, des Proteins am Duodenum und des Milchproteins vorliegen (JOCHMANN et al. 1996).

Vor allem Met, aber auch Lys erwiesen sich häufig für die Milchleistung als limitierende AA. Diese beiden AA werden von der Milchdrüse verstärkt zur Milchproteinsynthese genutzt, was sich in geringen Konzentrationen im Blutplasma widerspiegelt (CLARK 1975; SCHWAB et al. 1992). CLARK (1975) zeigte bereits früh, dass neben Met und Lys auch His, Phenylalanin (Phe) und Threonin (Thr) die Milchproteinsynthese limitieren können.

ROBINSON et al. (2010) schrieben jüngst Isoleucin (Ile), Valin (Val) und His eine co-limitierende Funktion bei steigender intestinaler Lys-Absorption zu. JOCHMANN et al. (1996) fassten zusammen, dass weitgehender Konsens besteht, welche AA bei maisbetonten Rationen limitierend für die Milchleistung und -proteinsynthese sind. Weiter wird Met neben der erstlimitierenden Wirkung auf die Proteinsynthese beim laktierenden Milchrind auch ein derartig limitierender Effekt bzgl. des Fleischzuwachses von Aufzuchtrindern und für das Wollwachstum von Schafen zugesprochen (umfangreiche Quellenangaben bereits bei BRODERICK et al. 1974). Met ist häufig erstlimitierend, wobei dem Lys besonders in mais- und gerstereichen Rationen, die als Proteinträger zusätzlich Maiskleber(futter), Getreideschlempen oder Biertreber enthalten, eine erstlimitierende Bedeutung zukommen dürfte. RULQUIN et al. (1994a) ermittelten in einem Steigerungsversuch mit Lys als RPAA bei einer maisbetonten Ration signifikant höhere Milchproteingehalte sowie Milchprotein- bzw. Caseinmengen. Bei den meisten anderen Rationstypen kommt Lys eine co-limitierende Funktion zu.

Bei grassilagebetonten Rationen kann auch His eine (erst)limitierende AA werden, so dass Met und Lys nicht mehr erstlimitierend sind. RULQUIN und DELABY (1997) zeigten, dass dies auch für grünfutterbasierte Rationen bzw. bei Weidegang gilt. Mit einer RPMet-Zulage konnte zwar ein Anstieg der Met-Gehalte im Blutplasma erreicht werden, was als Indiz für den funktionierenden Pansenschutz der RPAA zu werten ist. Der Milchproteingehalt blieb aber gegenüber der nicht-supplementierten Ration unverändert. Auch XU et al. (1998) beschrieben, dass bei grasbetonten Rationen His, und in diesem Fall zusätzlich Arginin (Arg), eine stärkere Bedeutung als limitierende AA für die Milchleistung neben Met und Lys zukommen dürfte.

Besonders in Rationen für Milchkühe mit sehr hohen Leistungen werden höhere Anteile an absorbierbaren AA aus dem UDP gefordert. Gerade in Futtermitteln mit höheren UDP-Anteilen zeigen sich jedoch oft reduzierte Lys- und Met-Gehalte. Dies lässt plausibel erscheinen, dass bei unterschiedlichen Rationstypen Met die Milchproteinsynthese begrenzt (z. B. OVERTON et al. 1998; ARDANLAN et al. 2010). Besonders in der Früh-laktation, bei noch nicht maximaler Trockenmasse (TM)-Aufnahme muss jedoch beachtet werden, dass die

SCHUBA u. SÜDEKUM

mikrobielle Proteinsynthese noch nicht ihr höchstes, d. h. maximal mögliches Niveau erreicht (JOCHMANN et al. 1996). Demnach ist es besonders in der Früh- und Hochlaktation sinnvoll, eine Beeinflussung des AA-Musters am nXP durch Zulagen von RPAA vorzunehmen.

3 INTERMEDIÄRE VERWERTUNG VON AMINOSÄUREN

MACRAE und BEEVER (1997) sowie DANFÆR (1999) beschrieben die möglichen Verwertungswege der aus dem Dünndarm absorbierten AA. Hier sind vor allem drei zentrale Wege zu nennen: Der Einbau der AA in das Milchprotein im Zuge der Milchproteinsynthese, die Verwertung der AA zum Aufbau von Körpergewebe und die Nutzung glucoplastisch (synonym glucogen) wirksamer AA in der Leber zur Gluconeogenese. Im Folgenden wird die Nutzung von AA zur Milchproteinsynthese und zur Glucoseneubildung ausführlicher dargestellt, weil in diesen Prozessen bei Milchkühen die quantitativ bedeutendsten Mengen an AA genutzt werden.

3.1 MILCHPROTEINSYNTHESE

Die Milchproteinsynthese ist eine de novo-Synthese spezifischer Milchproteine (Casein- und Molkenproteine) in den Lactocyten der Milchdrüse. Hierfür müssen AA aus dem Blutplasma über spezifische Carriersysteme aufgenommen werden (VON ENGELHARDT u. BREVES 2010). In der Milchdrüse selbst werden über 80 % des Milchproteins synthetisiert (MACRAE u. BEEVER 1997). Die AA-Aufnahme aus arteriellem Blut durch die Membran in die Zellen der Milchdrüse erfolgt über mindestens 13 verschiedene Carriersysteme. Diese Transportmechanismen variieren und sind entweder AA-spezifisch oder können mehrere AA transportieren (MAAS et al. 1998). MACRAE und BEEVER (1997) sowie MAAS et al. (1998) charakterisierten in mathematischen Modellen den AA-Fluss in den Alveolarzellen und deren Umsatz zu Milchprotein. Abbildung 3 stellt eines dieser Modelle dar.

Es wird ersichtlich, dass die Alveolarzelle über zwei Reservoirs verfügt, und zwar zum Einen ein Pool mit freien, noch nicht gebundenen AA und zum Anderen ein Pool mit bereits im Milchprotein gebundenen AA. Dieses System der AA-Aufnahme aus arteriellem Blut und der folgenden Milchproteinsynthese kann in seinen Abläufen als relativ unflexibel beschrieben werden und nur über eine vorübergehende Speicherung freier AA im intrazellulären Reservoir beeinflusst werden.

Besonders für Rationen mit Futtermitteln, die einen nur geringen Met-Gehalt aufweisen, zeigt sich nach gezielter Supplementierung mit RPMet eine Erhöhung der Milchproteingehalte, so dass Met die limitierende AA ist (GRAULET et al. 2005). Die AA, welche letztlich die Milchproteinsynthese limitieren, können jedoch in Abhängigkeit von der Grundration variieren (XU et al. 1998).

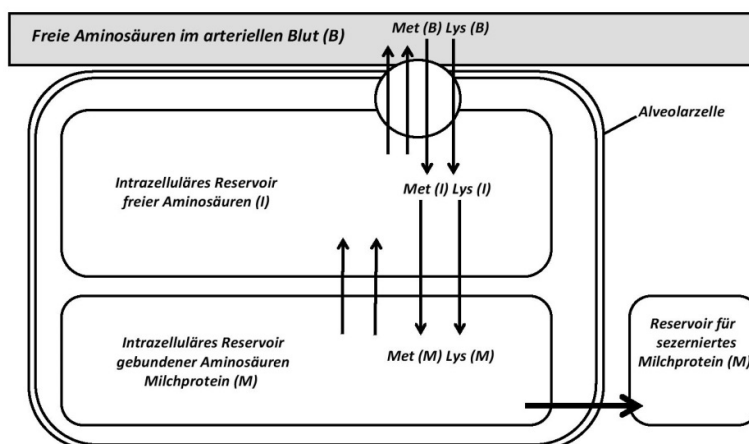


Abbildung 3: Schematische Darstellung des AA-Flusses in der Alveolarzelle und des AA-Umsatzes zu Milchprotein (vereinfacht nach MAAS et al. 1998)

Figure 3: Scheme regarding amino acid fluxes in mammary alveolar cells and amino acid transfer to milk protein (according to MAAS et al. 1998, simplified)

3.2 GLUCONEOGENESE

Die Neubildung von Glucose ist ein zentraler Stoffwechselprozess bei Milchkühen. Bei einem Milchleistungsniveau von 50 kg/Tag müssen 3,5 - 4 kg Glucose täglich synthetisiert werden (FLACHOWSKY et al. 2000). Zur Gluconeogenese können verschiedene glucoplastisch wirksame Substanzen genutzt werden. Bei mittlerem Leistungsniveau sind nach DANFÆR (1999) vorrangig Propionat als flüchtige Fettsäure mit einem Anteil von ca. 51 % und Lactat mit einem Anteil von ca. 15 % an der Gluconeogenese beteiligt. Glucoplastisch wirksame AA werden mit einem Anteil von ca. 21 % genutzt. Weitere 13 % der glucogenen Substrate entfallen auf nicht definierte Quellen, wobei Glycerin und Pyruvat als wahrscheinliche Substrate angenommen werden können (DANFÆR et al. 1995; DANFÆR 1999). Der jeweilige Anteil glucoplastisch wirksamer Substrate ist nicht fix und kann besonders im ersten Laktationsdrittel (also bei hoher Milchleistung, geringer Futteraufnahme und somit erhöhter Nutzung von Körperprotein) abweichen. Besonders im Zuge der damit einhergehenden negativen Energiebilanz (NEB) bei häufig gleichzeitiger ketotischer Stoffwechsellage kann die Gluconeogenese nicht mehr in gleichem Maße wie zuvor durch Nutzung von Propionat, Lactat und Glycerin sichergestellt werden. Damit gewinnen glucogene AA zunehmend an Bedeutung und tragen mit einem Anteil von bis zu 25 % zur Gluconeogenese bei (DANFÆR 1999). Je nach Ausprägung der NEB können somit AA zu etwa 15 % bis zu 25 % zur Glucoseneubildung beitragen. Die Nutzung von AA zur Gluconeogenese ist demnach in Abhängigkeit vom Milchleistungsniveau und von der Intensität der NEB variabel (FLACHOWSKY et al. 2009). Diese erhebliche Variation in den Anteilen und damit einhergehenden Mengen führt in sämtlichen Kalkulationsmodellen zur Ableitung von Dosis-Wirkungsbeziehungen zwischen AA-Versorgung und der Milchproteinleistung zu entsprechenden Ungenauigkeiten. Für die Rationsberechnung muss des Weiteren berücksichtigt werden, dass in der Früh-laktation die Energieaufnahme der Tiere meist

SCHUBA u. SÜDEKUM

unzureichend ist, so dass bei Milchleistungen von > 40 kg/Tag erst einmal geprüft werden sollte, ob überhaupt genügend nXP am Dünndarm anflutet (FLACHOWSKY et al. 2000). Weiter muss auch die Zusammensetzung der Ration beachtet werden. Bei erhöhten Anteilen an ruminal beständiger Stärke, z. B. aus Körnermais oder Hirse, kann es durch eine folglich erhöhte Glucoseanflutung zu einer entsprechenden „Einsparung“ von glucoplastischen AA kommen. Die Glucoseneubildung würde in diesem Falle reduziert (MATTHÉ et al. 2000). Beispielhaft soll in Tabelle 4 in Anlehnung an die Ableitungen von JOCHMANN et al. (1996) für Met dargestellt werden, wie „spekulativ“ Annahmen zur Ableitung eines Bedarfs an einzelnen AA sein können. Eine umfassende Ableitung müsste streng genommen alle glucoplastisch wirksamen AA und vor allem deren Verwertung einbeziehen. Die intermediäre Verwertung von Met ist aber vielfältig: Neben der Nutzung als AA zur Proteinsynthese ist Met ein Methylgruppendonator z. B. für die Cholinsynthese (s. 3.3) und die glucogene Verwertung in den Mitochondrien (Succinyl-Co-A). Zu welchen Anteilen Met letztlich in die verschiedenen Stoffwechselwege fließt, ist nicht präzise zu quantifizieren und beruht somit immer auf Annahmen. Im Beispiel (Tab. 4) wird deutlich, dass je nach glucogener oder ketogener Nutzung des Met die Bereitstellung z. B. zur Synthese von Milchprotein in Abhängigkeit vom Leistungsniveau ggf. nicht bedarfsdeckend ist. In diesem Falle könnte dann u. U. eine Zulage von RPMet erfolgen, die aber primär aus Annahmen abgeleitet wurde.

3.3 EINFLUSS VON METHIONIN AUF DEN FETTSTOFFWECHSEL DER KUH

Bei ausgeglichener Energiebilanz entspricht die Synthese der Triglyceride in etwa ihrem Abbau, der Lipolyse (KIRCHGESSNER 1997). Eine Anhäufung von Ketonkörpern im Blut (β -Hydroxybutyrat - BHB -, Acetoacetat, Aceton) und erhöhte Bilirubingehalte im Blutserum zeigen besonders in der Früh-laktation die vermehrte Nutzung von körpereigenen Fettreserven als Energiequelle zur Kompensation der NEB an. Diese Stoffwechsellage wird als Ketose bezeichnet. Die zur Reduktion der NEB mobilisierte Energie kann jedoch nicht nur aus Körperfett, sondern bis zur Hälfte auch aus Körperprotein stammen (ULBRICH et al. 2004; s. 3.2). Met hat eine entscheidende Bedeutung im Lipoproteinstoffwechsel der Milchkuh, da diese AA als Donator für energiereiche Methylgruppen im Zuge der Cholin-/Phosphatidylcholinsynthese fungiert (Abb. 4; s. OVERTON u. WALDRON 2004; BRÜSEMEISTER u. SÜDEKUM 2006). Met ist eine Quelle für den Methyl-donator S-Adenosylmethionin, das die Methylgruppen für die Neusynthese von Cholin bereitstellt. Bei ketotischer Stoffwechsellage und somit rascher Fettmobilisation reichern sich in hohem Maße freie, nicht veresterte Fettsäuren (non-esterified fatty acids, NEFA) im Blut an, die zu diesem Laktationszeitpunkt noch nicht vollständig durch die Milchdrüse als Vorstufe zur Milchfettsynthese oder für den Energiehaushalt genutzt werden können (OVERTON u. WALDRON 2004). Bei ketotischer Stoffwechsellage werden diese NEFA schließlich in Form von Triglyceriden im Lebergewebe eingelagert, was zu einer Hemmung der Leberfunktionen, unter Anderem zu einer beeinträchtigten Detoxifikation von Ammoniak zu Harnstoff und zu einer reduzierten Gluconeogenese führen kann (OVERTON u. WALDRON 2004).

Tabelle 4: Modellhafte Ableitungen zur Methioninversorgung bei unterschiedlicher Milchleistung bzw. unterschiedlicher Verwertung des Methionins (nach JOCHMANN et al. 1996)

Table 4: Estimation of methionine supply as related to milk yield or varying methionine utilization (according to JOCHMANN et al. 1996)

Milchleistung (kg/Tag)	35		40		45	
Erhaltungsbedarf (MJ NEL/Tag)	33,3		33,3		33,3	
Leistungsbedarf (MJ NEL/Tag)	115		131		148	
∑ Energiebedarf (MJ NEL/Tag)	148		165		181	
TM-Aufnahme (kg/Tag)	20		22		24	
Met-Aufnahme (3 g/kg TM) (g/Tier/Tag)	60		66		72	
Pansenstabiles Met (%) ¹	35		35		35	
Pansenstabiles Met (g/Tier/Tag)	21		23		25	
Annahmen zur Met-Verwertung:						
Ketogene/glucogene Nutzung des Met (%)	10	20	10	20	10	20
Verwertung für Milchweißsynthese (%)	80	70	80	70	80	70
Rest (nicht zuzuordnen) (%)	10		10		10	
Met am Duodenum ²	61		68		74	
Met-Absorption (80 %) (g/Tier/Tag)	49		54		59	
Bruttobedarf an metabolisierbarem Met						
a) g/kg Milch ³	1,13	1,29	1,13	1,29	1,13	1,29
b) g/(Tier x Tag); inkl. 7 g Erhaltung/Tag	46	52	52	58	58	65
Versorgungsniveau (%)	105	94	104	92	103	91
Met-Bilanz (g/Tier/Tag)	+3	-3	+2	-4	+2	-6
Mikrobielle XP-Synthese (15 g/MJ NEL)	2222		2468		2714	
Met im mikrobiellen XP (1,8 g/100 g)	40		44		49	

¹ Abbau 65 % analog zum XP-Abbau² pansenstabiles Met + Met in mikrobiellem Protein³ 0,9 g Met/kg Milch, angegebene Werte bei einer Verwertung von 80 bzw. 70 %

SCHUBA u. SÜDEKUM

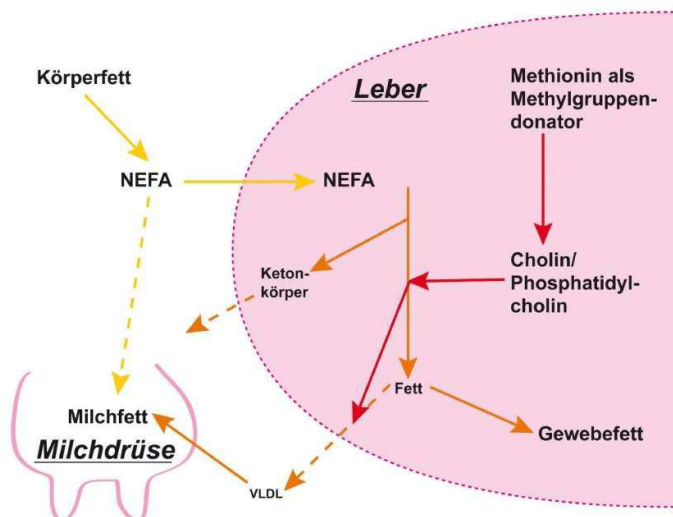


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Stoffwechsels nicht-veresterter Fettsäuren (NEFA) bei der Milchkuh (unter Berücksichtigung des Phosphatidylcholins; modifiziert nach DRACKLEY 1999)

Figure 4: Scheme regarding the metabolism of non-esterified-fatty acids (NEFA) in the dairy cow (according to DRACKLEY 1999, modified)

Die NEFA werden teilweise in Triglyceride eingebaut und in Form der Lipoproteine geringer Dichte (VLDL) aus dem Lebergewebe geschleust. Cholin bzw. Phosphatidylcholin leisten einen wichtigen Beitrag zur Synthese der VLDL. Dennoch ist dieser Vorgang bei Milchkuhen limitiert. Die Nutzung von Met in der Cholinsynthese kann somit zur Vermeidung oder Entschärfung ketotischer Stoffwechsellagen im puerperalen Zeitraum beitragen. Eine ausreichende Met-Versorgung sollte deshalb besonders im ersten Laktationsdrittel angestrebt werden. Nach Analyse der zur Ketosediagnostik genutzten Blut-, Körper- und Milchkenngrößen (BHB, Fett-Eiweiß-Quotient, Milchacetongehalt, Rückenfettdicke) konnte von ENGELHARD und HELM (1998) eine Reduktion der ketotischen Belastung nach Met-Zulage (beginnend 14 Tage ante partum) als RPAA beobachtet werden. Die Autoren beschrieben eine „relativ bessere Tiergesundheit“ nach dem Kalben, explizit eine stabilere Stoffwechselsituation im Hinblick auf den Fettstoffwechsel, die Leberfunktion und die Verminderung ketotischer Folgeerkrankungen. Lediglich eine Tendenz zur Stabilisierung der Lebendmasse nach Met-Zulage wurde von DINN et al. (1998) beobachtet.

Mögliche Auswirkungen einer kombinierten Ergänzung von Met und Cholin wurden von ARDALAN et al. (2010) untersucht. Es ergaben sich deutliche positive Effekte auf die Persistenz der Milchleistung und eine schwächere Ausprägung der NEB. Die alleinige Supplementierung von pansengeschütztem Met bzw. von pansengeschütztem Cholin zeigte jedoch keinen Einfluss auf die Intensität klinischer Ketosen. TRINÁCTÝ et al. (2009) beobachteten bei Met-Zulage einen signifikanten Rückgang der BHB-Konzentration im Blutplasma. Es muss jedoch erwähnt werden, dass die erfassten Metaboliten im Blut physiologischen Schwankungen unterliegen. Zusätzlich werden sie z. B. vom Laktationsstadium, der TM-Aufnahme und dem Alter des Tieres beeinflusst (s. KAMPHUES 2010).

YANG et al. (2010) beobachteten in einem Dosis-Wirkungs-Versuch mit Met-Zulage von bis zu 56 g pansengeschütztem Met/Tag eine Veränderung der Milchzusammensetzung und einen Anstieg des Milchfettgehaltes. Einen solchen Effekt schilderten zuvor auch schon OVERTON et al. (1996). Eine weitere Interpretation ist jedoch für beide Versuchsansätze schwierig, weil keine Ketoseindikatoren erfasst wurden. WEEKES et al. (2006) beobachteten in einem Infusionsversuch mit Met, Lys und His, dass im Met-Mangel die Milchfettgehalte am geringsten waren, nach Ergänzung von Met und gleichzeitigem Mangel vom Lys oder His jedoch deutlich stiegen. Auswirkungen auf ketotische Stoffwechsellagen konnten jedoch über die BHB-Werte nicht belegt werden.

MCCRACKEN et al. (1993) sehen einen Zusammenhang zwischen ruminal verfügbarem Met und der Milchfettsynthese. Es wird eine gesteigerte ruminale Faserverdauung beschrieben, die sich – bedingt durch eine erhöhte Acetat-Produktion – auch fördernd auf die Milchfett-Synthese auswirkte. Durch eine DL-Met-Zulage konnten das Mikrobienwachstum und die Verdauung der Neutral-Detergenzienfaser gefördert werden. Einen Anstieg der Milchfettgehalte durch ruminal verfügbares DL-Met und ein MHA (DL- α -hydroxy- γ -methyl-Mercaptobutyrat-Calcium) zeigten schon früher HUBER et al. (1984) sowie LUNDQUIST et al. (1985). HUBER et al. (1984) führten diese Beobachtung jedoch nicht auf eine veränderte mikrobielle Aktivität zurück, sondern schlussfolgerten, dass Met die Fettaufnahme aus dem Blutserum und die Fettsynthese in der Milchdrüse förderte. In Anlehnung an OVERTON u. WALDRON (2004) könnte man hieraus schließen, dass über eine Zulage von Met und eine Erhöhung der Phosphatidylcholinsynthese höhere Milchfettgehalte ermöglicht werden.

4 SUPPLEMENTIERUNG VON (PANSEGESCHÜTZTEN) AMINOSÄUREN

4.1 ALLGEMEINES

Das Profil der aus dem Dünndarm absorbierten AA (UDP, Mikrobienprotein, endogenes Protein) kann rationsabhängig erheblich variieren und ist nicht immer optimal an die Leistungen des Tieres angepasst (RULQUIN et al. 1998). Deshalb erscheint es attraktiv, unausgewogene AA-Profile durch den Einsatz von RPAA, insbesondere von Met und Lys, auszugleichen, um Milchleistung oder -proteingehalte günstig zu beeinflussen. Dabei muss aber berücksichtigt werden, dass die Vorhersagbarkeit der intermediären Verwertungswege – insbesondere wegen der Schwierigkeit, den Umfang der Nutzung von AA für die Gluconeogenese zu quantifizieren – nicht sehr hoch sein kann. Da freie AA im Pansen des Wiederkäuers rasch abgebaut werden (OVERTON et al. 1996; YANG et al. 2010), ist sowohl unter dem Aspekt der N-Effizienz (ERASMUS et al. 2004; GRAULET et al. 2005) als auch der Ökonomie, die sich im Erlös abzüglich der Futterkosten widerspiegelt, der Einsatz von RPAA zu bevorzugen. Dabei ist bisher RPMet (gefolgt von RPLys) die am häufigsten geprüfte AA (ROBINSON 2010). Angestrebt wird, die AA weitgehend vor einem Abbau bzw. vor einer Reduktion im Pansensaft zu schützen, ohne die Absorption im Dünndarm, die vor allem im Jejunum und Ileum erfolgt, zu beeinträchtigen (SÜDEKUM et al. 2004; GRAULET et al. 2005; TRÍNÁCTÝ et al. 2009). Als Indikator für die posthumal absorbierte AA-Menge wird häufig die Veränderung der AA-Konzentration im Blutplasma verwendet (KOENIG u. RODE 2001).

Nachfolgend werden Methoden charakterisiert, die dazu beitragen können, mögliche limitierende AA vor einem ruminalem Abbau zu schützen und sie gleichzeitig im Dünndarm in absorbierbarer Form bereit zu stellen oder Met-Analoga zu verwenden, die nach entsprechender Absorption intermediär Met liefern. Dabei dürfen sensorische Auswirkungen

SCHUBA u. SÜDEKUM

solcher Zusatzstoffe auf die Akzeptanz des Futters nicht vernachlässigt werden, um eine mangelnde Aufnahme von RPAA-haltigen Konzentratfuttermitteln oder nachteilige Auswirkungen auf die (Gesamt-)TM-Aufnahme zu vermeiden.

4.2 METHIONIN

4.2.1 PANSENGESCHÜTZTES UMMANTELTES DL-METHIONIN

Für die Produktion von pansengeschütztem, ummanteltem Met (coated methionine, CM) werden die Met-Moleküle mit einer Schutzschicht überzogen oder in eine Matrix eingeschlossen. Der Einsatz von Fettsäuren in Kombination mit pH-sensitiven Polymeren oder Fett/gesättigten Fettsäuren und mineralischen Trägerstoffen reduziert die ruminale Reduktion des Met (GRAULET et al. 2005; ERASMUS et al. 2004). Die Schutzvariante von Met über pH-sensitive Polymere (2-Vinylpyridin-Co-Styrol) in Kombination mit Stearinsäure weist einen Schutz vor ruminale Reduktion im Pansensaft bei pH-Werten > 4 auf. Im sauren Milieu des Labmagens (pH ~ 2) wird die Polymerbeschichtung hydrolysiert, das Met so freigesetzt und kann dann absorbiert werden (DONKIN et al. 1989; JOCHMANN et al. 1996; DINN et al. 1998; ERASMUS et al. 2004; SÜDEKUM et al. 2004; ARDALAN et al. 2010). Beachtet werden muss jedoch, dass besonders feuchtere Maissilagen (< 30 % TM) sowie Pressschnitzsilagen teils recht niedrige pH-Werte (< 4) aufweisen. Der Einsatz von CM könnte bei solchen Grobfuttern und bei Gesamt-Misch-Rationen, die mit Säuren versetzt sind sowie bei allen Rationen mit hohen Anteilen an leicht fermentierbaren Kohlenhydraten, die zu niedrigen Pansen-pH-Werten führen, kritisch oder fraglich sein (ROBINSON 2010). Die grundsätzliche Verfügbarkeit von CM für die laktierende Milchkuh wurde wiederholt experimentell nachgewiesen, allerdings mit variierenden Werten. Mittels Nylonbeuteltechnik wurde die ruminale Beständigkeit auf 80 % geschätzt und die intestinale Absorbierbarkeit des RPMet auf 90 % (SCHWAB 1995). Gemessen über die Met-Konzentration im Blutplasma gaben RULQUIN und KOWALCZYK (2003) eine Verfügbarkeit von 75 % an.

Andere Schutzmechanismen beruhen auf eine Ummantelung mit Ethylzellulose in Kombination mit Stearinsäure oder einem "Coating" des DL-Met mit einer Ca-Seife. SÜDEKUM et al. (2004) verglichen an Ochsen die Pansenbeständigkeit dieser beiden Varianten und des oben charakterisierten pH-sensitiven Polymers: Alle geprüften RPMet-Varianten ergaben gegenüber der Ausgangssituation (ohne Ergänzung) einen Anstieg der Met-Konzentration im Blutplasma, der jedoch nur für die Variante mit dem pH-sensitiven Polymer signifikant war, so dass lediglich für diese Variante ein ausreichender Schutz vor ruminalem Abbau belegt werden konnte. Ähnliche Ergebnisse wurden schon zuvor an Milchkühen von BLUM et al. (1999) ermittelt, die für das Produkt mit dem pH-sensitiven Polymer einen starken Anstieg (9-fach zur Kontrolle) der Met-Konzentration im Blutplasma ($p < 0,01$) nachwiesen.

TRÍNÁCTÝ et al. (2009) ermittelten signifikant höhere Met- und Lys-Konzentrationen im Blutplasma nach Met-Zulage in Form von CM (Tab. 5), so dass die Co-Polymer-Ummantelung als effektiver Schutzmechanismus vor ruminalem Abbau angesehen werden kann, mit der die intestinale AA-Anflutung zu fördern ist.

Tabelle 5: Effekte von pansengeschütztem Lysin, Methionin oder beiden Aminosäuren als Zulage zu Milchkuhrationen auf die Harnstoff- sowie Aminosäurekonzentrationen im Blutplasma (nach TRINÁČTÝ et al. 2009)

Table 5: Effect of supplemental rumen-protected lysine, methionine or both amino acids added to the ration of lactating dairy cows on the average plasma concentration of urea and free amino acids (according to TRINÁČTÝ et al. 2009)

Blutplasmakonzentration	Kontrolle	Lys ¹⁾	Met ¹⁾	Lys + Met ¹⁾	SE ²⁾
Harnstoff ³⁾ (µg/ml)	20,0 ^a	21,9 ^a	16,7 ^a	32,6 ^b	2,76
Lys (µg/ml)	8,74 ^a	10,8 ^{a,b}	11,9 ^b	11,3 ^{a,b}	0,899
Met (µg/ml)	2,01 ^a	2,59 ^{a,b}	3,45 ^b	5,07	0,259
His (µg/ml)	3,45	5,01	4,58	4,89	0,705
Leu (µg/ml)	7,89	9,93	8,86	9,64	0,752
Ile (µg/ml)	10,4	12,0	10,7	12,2	0,798

¹⁾ Lys: 11,7 g Lysin/Tag; Met 18,2 g Methionin/Tag; Lys + Met: 11,7 g Lysin/Tag und 18,2 g Methionin/Tag²⁾ Standardfehler der Mittelwerte³⁾ Der signifikant erhöhte Harnstoff-Gehalt im Blutplasma der Tiere, die mit Lys + Met supplementierte Rationen erhielten, weist auf eine verstärkte AA-Oxidation und damit eine verringerte Nutzungseffizienz für die Proteinsynthese hin.^{a,b,c} = unterschiedliche Buchstaben in einer Zeile zeigen signifikante Unterschiede (p < 0,05)

4.2.2 ANDERE MET-VERBINDUNGEN/-QUELLEN

- 2-Hydroxy-4-Methylthio-Butansäure

Die Verwendung von 2-Hydroxy-4-Methylthio-Butansäure (HMB; s. Abb. 5) ist bei monogastrischen Nutztieren bereits etabliert. Für Wiederkäuer hingegen fehlen bislang belastbare Versuchsdaten, die einen Einsatz in der Fütterungspraxis rechtfertigen würden. Die ruminale Abbaubarkeit bzw. ein möglicher positiver Effekt auf Milchleistung und -inhaltsstoffe des HMB wurde in diversen Versuchsanstellungen überprüft und führte zu unbefriedigenden Ergebnissen. Auch HMB wird ruminal abgebaut, wenn es nicht wie Met ummantelt oder auf anderem Wege geschützt zum Einsatz kommt.

Rationen mit HMB beim Milchrind ergaben keine positive Veränderung essentieller Leistungsmerkmale (ST-PIERRE u. SYLVESTER 2005). Dies wird durch weitere Ergebnisse von JOHNSON-VAN WIERINGEN et al. (2007) unterstützt, wobei ergänzend berichtet wurde, dass auch keine Effekte auf die AA-Konzentration im Blut festgestellt werden konnten.

Während HMB-Zulagen keine gesicherte Milchleistungs- oder Milchproteinsteigerung bewirkten, wurden mehrfach höhere Milchfettgehalte nach HMB-Supplementierung beschrieben (HUBER et al. 1984; LUNDQUIST et al. 1985; MCCRACKEN et al. 1993). ST-PIERRE und SYLVESTER (2005) beobachteten einen geringen, aber signifikanten Anstieg der Laktosegehalte in der Milch nach HMB-Ergänzung. Die HMB-Supplementierung zeigte jedoch keine Steigerung der Milchproteinsynthese (GRAULET et al. 2005) oder Milchleistung. Insgesamt kann aus den vorliegenden Daten gefolgert werden, dass HMB-Zulagen eine Steigerung der Milchfettgehalte und möglicherweise der Milchmenge bewirken können, die Milchproteinsynthese jedoch nicht erhöhen.

SCHUBA u. SÜDEKUM

- 2-Hydroxy-4-Methylthio-Butansäure-Isopropylester

2-Hydroxy-4-Methylthio-Butansäure-Isopropylester (HMBi) wird über die Pansenwand aufgenommen und setzt intermediär HMB und Isopropylalkohol frei; HMB kann in Met umgewandelt werden, so dass eine biologische Wirksamkeit grundsätzlich gegeben ist (GRAULET et al. 2005). Die Veresterung des HMB mit Isopropanol reduziert den Grad des ruminalen Abbaus und erhöht damit indirekt die Umwandlungsrate zu Met. Daraus folgt, dass HMB und HMBi unterschiedliche Wirkmechanismen haben (ST-PIERRE u. SYLVESTER 2005). Ausführlich dokumentierte Daten zu HMBi liegen bisher nicht vor. Drei Kurzfassungen (ROBERT et al. 2001; SCHWAB et al. 2001; ROBERT et al. 2002) berichten von einer Bioverfügbarkeit des HMBi von im Mittel etwa 45 %.

Die bisher beobachteten Effekte scheinen unabhängig davon zu sein, ob das HMBi in flüssiger oder kristalliner Form eingesetzt wird. Es gibt aber deutliche Hinweise auf eine differierende biologische Verfügbarkeit des HMBi in Abhängigkeit von der Form des Molekülverbundes (ST-PIERRE u. SYLVESTER 2005). Nur die Monomerform soll demnach bioverfügbar sein, während Dimeren keine biologische Verfügbarkeit als Met-Vorstufe aufweisen.

4.2.3 VERGLEICH DER VERSCHIEDENEN MET-VERBINDUNGEN

Strukturelle Ähnlichkeiten und Unterschiede zwischen Methionin und den beiden weiter oben charakterisierten Vorstufen sind in Abbildung 5 illustriert. Nur Met ist eine AA mit Carboxyl- und Aminogruppe, während den beiden Vorstufen HMB und HMBi die Aminogruppe fehlt. Mittels CM (BLUM et al. 1999) oder HMBi (GRAULET et al. 2005) kann das Angebot an metabolisierbarem Met erhöht werden. Als Zielgröße wurde in diesen Studien der Plasma-Met-Gehalt verwendet, dessen Erhöhung als Indiz für ein gesteigertes Angebot an Met auch für die Milchproteinsynthese gewertet wurde. In einem Vergleich von HMB und HMBi führte HMBi im Vergleich zu einer nicht-supplementierten Kontrollration zu einer Erhöhung der Milchleistung und der täglich produzierten Fett-, Eiweiß- und Laktosemengen sowie zu einem höheren Milchproteingehalt. Keine dieser Wirkungen konnte für HMB abgesichert werden (ST-PIERRE u. SYLVESTER 2005). Ebenso verbesserte nur HMBi, nicht jedoch HMB die N-Effizienz (ST-PIERRE u. SYLVESTER 2005).

Nach NOFTSGER und ST-PIERRE (2003) hat HMB weniger einen direkten Einfluss auf die intestinale Anflutung von Met, sondern beeinflusst vielmehr die ruminale Mikrobenpopulation. Dies stimmt mit früheren Aussagen von JOCHMANN et al. (1996) überein, wonach gesondert ergänzte, aber nur wenig geschützte AA im Pansen dazu beitragen können, die mikrobielle N-Nutzung zu verbessern.

YANG et al. (2010) ermittelten nach Zulage von CM eine höhere Milchleistung und eine tendenziell forcierte Milchprotein- und Milchfettsynthese bei hochlaktierenden Milchkühen. Dies wurde in ähnlicher Weise zuvor von TRINÁCTÝ et al. (2009) beobachtet. Hier führte die Zulage von Lys in Kombination mit Met als CM ebenfalls zu höheren Werten in der Milchleistung und im Milchproteingehalt. Bedingt durch den Lys-Mangel in der Grundration konnte dieser Effekt jedoch nur bei einer Kombination von CM mit Lys erzielt werden.

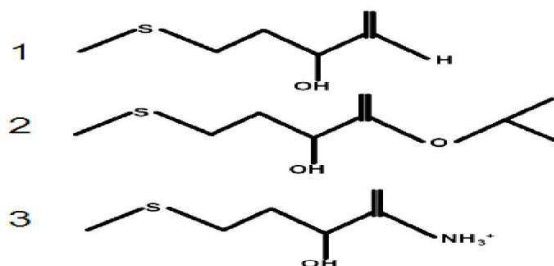


Abbildung 5: Die chemische Struktur von (1) 2-Hydroxy-4-Methylthio-Butansäure, (2) 2-Hydroxy-4-Methylthio-Butansäure Isopropylester und (3) Methionin

Figure 5: Chemical structure of (1) 2-hydroxy-4-methylthio-butanoic acid, (2) 2-hydroxy-4-methylthio-butanoic isopropylester and (3) and methionine

Eine CM-Zulage in Kombination mit RPLys führte zu einer positiven Beeinflussung von Milchproteinmenge und -gehalt bei Milchkühen im mittleren Laktationsabschnitt (DONKIN et al. 1989). OVERTON et al. (1996) fanden zwar – wie auch SÜDEKUM et al. (2004) – bei CM-Zulagen einen Anstieg der Met-Gehalte im Blutplasma als Beleg für den Schutz des Met vor ruminalem Abbau, aber keinen Effekt auf die Milchleistung und -proteingehalte.

In Tabelle 6 sind die Auswirkungen von RPMet auf Milchproteingehalte und die energiekorrigierte Milchmenge (energy-corrected milk, ECM) dargestellt. Es wurden hier lediglich die Versuche zusammengefasst, in denen nur RP-Met ergänzt wurde. Eine Zusammenfassung der Versuchsergebnisse zum Einsatz von CM, HMB und HMBi sind Tabelle 7 zu entnehmen.

Die Basis zur Ableitung der ECM war folgende Formel:

$$\text{ECM (kg/Tag)} = ([0.327 \times \text{kg Milch}] + [12.95 \times \text{kg Milchfett}] + [7.2 \times \text{kg Milchprotein}]),$$

wie u. a. von ARDALAN et al. (2010) beschrieben.

SCHUBA u. SÜDEKUM

Tabelle 6: Veränderungen der Milchproteingehalte (Prozentpunkte) und Milchmengen (kg ECM) bei Zulagen von pansengeschütztem Methionin (Angaben: relativ zur un-supplementierten Kontrollration)

Table 6: Changes of milk protein concentration (percentage units) and milk yield (kg ECM) in response to rumen-protected methionine supplementation relative to the unsupplemented control ration

Met-Zulage (g je Kuh und Tag)	Milchprotein	ECM	Autor(en)
9,0	0,16	3,1	CHEN et al. (2011)
9,0	0,14	1,1	CHEN et al. (2011)
9,0	0,12	2,3	CHEN et al. (2011)
10,0	0,09	-0,45	LUNDQUIST et al. (1985)
10,0	-0,04	1,46	LUNDQUIST et al. (1985)
12,8	0,10	-1,21	ENGELHARD u. HELM (1998)
13,0	0,08	-0,23	RULQUIN u. DELABY (1997)
13,7	0,16	4,55	ST PIERRE u. SYLVESTER (2005)
13,7	0,14	5,24	ST PIERRE u. SYLVESTER (2005)
14,0	0,13	1,59	YANG et al. (2010)
18,0	0,06	2,19	ARDALAN et al. (2010)
20,0	0,08	0,55	LUNDQUIST et al. (1985)
20,0	-0,07	-0,78	LUNDQUIST et al. (1985)
20,0	0,04	2,37	OVERTON et al. (1998)
20,0	0,07	-1,8	OVERTON et al. (1998)
20,0	0,01	2,5	OVERTON et al.(1996)
28,0	0,14	1,01	YANG et al. (2010)
30,0	-0,04	1,8	LUNDQUIST et al. (1985)
30,0	-0,01	1,35	LUNDQUIST et al. (1985)
42,0	0,26	4,14	YANG et al. (2010)
56,0	0,27	3,12	YANG et al. (2010)
70,0	0,30	2,24	YANG et al. (2010)
23,2	0,11	1,43	Mittelwert (arithmetisch)

Pansengeschützte Aminosäuren in der Milchkuhfütterung
Übers. Tierernähr. 40 (2012), 113-149

Tabelle 7: Einsatz einer oder mehrerer (pansengeschützter) Methionin-/Lysin-Quellen – Auswirkungen auf Milchleistung/-inhaltsstoffe
Table 7: Trials with one or more supplemented (rumen-protected) methionine-/lysine-sources – effects on milk yield and milk composition

Amino- säure (AA)	AA-Quelle	Laktations- nummer ¹	Laktations- abschnitt ²	Grobfutter Rationsbasis ³	Effekte			Autor(en)
					Milch- menge kg/d	Protein (%)	Fett Fett (%) kg/d	
Met	CM	1 und >1	F	Lu/Ma	*			ARDALAN et al. (2010)
Met, Lys	CM, CL	1 und >1	F	Ma/Cott		*		BERTRAND et al. (1998)
Lys	CL	>1	F	Lu/Ma/Cott	*	*		BLAUWIEKEL et al. (1996)
Met	HMBi, HMB+CM	1 und >1	F/M	Lu/Ma	*	*	Trend.	CHEN et al. (2011)
Met, Lys	CM, CL	>1	F	G/Ma	*			DINN et al. (1998)
Met, Lys	CM, CL	#	M	Ma		*		DONKIN et al. (1989)
Met	CM	1 und >1	F	G/Ma		*	*	ENGELHARD u. HELM (1998)
Lys	CM	#	F	Lu/Ma				ERASMUS et al. (2004)
Met	HMB	#	F	Ma		*	*	HUBER et al. (1984)
Met, Lys	HMB, Lys- HCl ⁽⁷⁾	1 und >1	F/M	Lu/Ma				JOHNSON-VAN WIERINGEN et al. (2007)
Met	CM	1 und >1	F	Lu/Ma		*	*	LUNDQUIST et al. (1985)
Met	HMB	1 und >1	F	Lu/Ma		*	*	LUNDQUIST et al. (1985)
Met	HMB, CM	1 und >1	F	Ma	*	*	*	NOFTSGER u. ST-PIERRE (2003)
Met	CM	>1	F/M	LuS/Ma		Trend.	*	OVERTON et al. (1998)
Met	CM	#	S	Lu/Ma		*	*	OVERTON et al. (1996)
Met, Lys	CM, CL	>1	M	Lu/Ma		*	*	PIEPENBRINK et al. (1996)
Met Lys	CM, CL	>1	F/M/S	Ma/Lu	*	*	*	ROBINSON et al. (1994)
Met, Lys	CM, CL	>1	F/M	G/Ma	*	*	*	ROBINSON et al. (1997)
Lys	CL	1 und >1	F/M	Lu/Ma	*	*	*	ROBINSON et al. (2011)

SCHUBA u. SÜDEKUM

Fortsetzung Tabelle 7
Follow-up table 7

Amino- säure (AA)	AA-Quelle	Laktations- nummer ¹	Laktations- abschnitt ²	Grobfutter Rationsbasis ³	Effekte			Autor(en)
					Milch- menge	Protein	Fett	
					kg/d	(%)	kg/d	(%)
Met, Lys	CM, CL	>1	F/M/S	Ma	*	*	*	ROGERS et al. (1988)
Lys	CM	#	F	Ma		*	*	RULQUIN et al. (1994a)
Met, Lys	#	#	F	Ma	*	*	*	RULQUIN et al. (1994b)
Met	CM	1 und >1	M	W		*	*	RULQUIN u. DELABY (1997)
Met	HMBi	1 und >1	F	Ma	*	*	*	ST-PIERRE u. SYLVESTER (2005)
Met	HMB	1 und >1	F	Ma				ST PIERRE u. SYLVESTER (2005)
Met, Lys	CM, CL	>1	F	Ma	*	*	*	TRINÁCTÝ et al. (2009)
Met, Lys	CM, CL	>1	F	G	*	*	*	XU et al. (1998)
Met	CM	>2	F	Ma	*	*	*	YANG et al. (2010)

¹ # = keine Angaben² F = Frühlaktation, M = Mitte der Laktation, S = Spätlaktation³ Cott = Baumwollsaat, G = Grassilage, Lu = Luzerneheu, LuS = Luzernesilage, Ma = Maissilage, W = Weide⁴ MY = Milchleistung (milk yield), * = signifikant, Trend = tendenzielle Verbesserung⁵ Lys-HCl= L-Lysin-Hydrochlorid (ungeschützt, d. h. nicht geacoated)

4.3 LYSIN (INSBESONDERE PANSENGESCHÜTZTE PRODUKTE)

Zulagen von Lys oder RPLys mit dem Ziel einer höheren Milch(protein)leistung sind bisher weit weniger intensiv untersucht worden als Zulagen von RPMet. Darauf weist unter anderem ROBINSON (2010) in einer systematischen Literaturanalyse zu beiden AA hin. Bislang wurde vor allem die ummantelte Form (coated lysine, CL) geprüft, zum Schutz vor ruminalem Abbau wird wie bei CM (s. 4.2.1) verfahren. Der Einsatz von L-Lysin-HCl ohne Schutz zeigte weder einen Effekt auf wichtige Leistungskenngrößen der Milchkühe noch eine Beeinflussung des Aminosäureprofils im Blut nach der Fütterung (JOHNSON-VAN WIERINGEN et al. 2007). Dies gelang jedoch mit CL; der Lysin-Gehalt im Blutplasma stieg (ROGERS et al. 1988; BLAUWIEKEL et al. 1996), so dass ein Schutz vor dem ruminalem Abbau erreicht sein dürfte. ROBINSON et al. (2011) kalkulieren mit einer ruminalem Beständigkeit von etwa 50 % (41 g Lys/Tier x Tag), dadurch zusätzlich intestinal anflutendes Lys: 15 - 21 g Lys/(Tier x Tag).

ROBINSON et al. (1997) beobachteten positive Auswirkungen von CL-Zulagen auf die Milchinhaltstoffe, es wurde jedoch – ähnlich wie bei ROBINSON et al. (1994), BERTRAND et al. (1998) und SOCHA et al. (2005) – eine Mischung aus CL und CM supplementiert, so dass Effekte nicht speziell der Lys- oder Met-Zulage zugeordnet werden können (s. Tab. 6). ROBINSON et al. (2011) konnten hingegen bei einer Zulage von 41 g CL/(Tier x Tag) deutliche Effekte auf die Milchleistung (+ 2,03 kg/Tag), Milchproteinmenge (+ 0,08 kg/Tag) und Milchfettmenge (+ 0,10 kg/Tag) sowie den Milchproteingehalt (+ 0,06 %) bei Tieren im ersten Laktationsdrittel feststellen. Die Effekte ließen sich im zweiten Laktationsdrittel so nicht mehr beobachten. Hier wurde lediglich eine tendenziell höhere Milchfettsynthese ermittelt (+ 0,12 kg/Tag Fettmenge; + 0,21 % Fettgehalt). Eine zusammenfassende Darstellung der Befunde enthält Tabelle 8. Effekte einer CL-Zulage wurden bei Lys-Mangelrationen ermittelt. Diese enthielten Raps- oder Baumwollsaatextraktionsschrote, aber eben kein Sojaextraktionsschrot.

5 REDUKTION DES ROHPROTEINNIVEAUS UND AMINOSÄUREN-BILANZIERUNG

Neben einer angestrebten Stoffwechselentlastung sowie Reduktion vermeidbarer N-Ausscheidungen sind es vor allem ökonomische Gründe, die in der Praxis zu einem Einsatz von AA in Milchviehrationen (SCHRÖDER et al. 2010) führen. Eine niedrige N-Effizienz spiegelt sich in hohen N-Ausscheidungen über die Exkremate, insbesondere als Harnstoff im Harn (DINN et al. 1998; KEHRAUS et al. 2006) und z. B. auch den Milchwahnharnstoffgehalten wider. Nachteilige Effekte einer wenig effizienten N-Nutzung in der Milchkühhütterung zeigen sich u. a. in einer forcierten Ammoniak-Ausgasung und Lachgasbelastungen für die Umwelt sowie in hohen Nitratgehalten im Grundwasser (DINN et al. 1998) und nicht zuletzt in der Belastung des Stoffwechsels durch die erforderliche Entgiftung von Ammoniak in der Leber.

Um Futter-N-Verluste zu minimieren und die N-Nutzungseffizienz der laktierenden Milchkühe zu verbessern, kann der XP-Gehalt der Rationen evtl. zurückgenommen werden. Bei gleichzeitiger Supplementierung der Rationen mit RPLys und RPMet (isoliert oder in Kombination) kann die Menge an Lys und Met am Anfang des Dünndarms erhöht werden, wie schon beschrieben wurde. Dadurch kommt es zu einem günstigeren AA-Profil, das zur Absorption zur Verfügung steht und schließlich zu einer besseren N-Verwertung bei reduzierten N-Gehalten in der Gesamtration (DINN et al. 1998).

SCHUBA u. SÜDEKUM

DINN et al. (1998) konnten bei leicht reduzierten XP-Gehalten (16,7 % - 15,3 % der TM) das Milchleistungsniveau der Kontrollgruppe (18,3 % der TM) nicht halten. PIEPENBRINK et al. (1996) erzielten mit RPMet- bzw. RPLys-Zulagen keine Leistungssteigerung gegenüber einer Kontrolle mit nur 14 % XP in der TM der Gesamtmischung. Eine Anhebung der XP-Konzentration auf 18 % der TM ergab jedoch günstigere Leistungen.

Es stellt sich jedoch die Frage, ob die Charakterisierung der Ration mit XP-Gehalten hier überhaupt zielführend ist. Eine ausreichend aktive, d. h. proteinsynthesisierende Mikrobenflora erscheint für die Aminosäurenanflutung am Duodenum vielleicht von größerer Bedeutung als die XP-Zufuhr in den Pansen.

Tabelle 8: Veränderungen der Milchproteingehalte (Prozentpunkte) und Milchmengen (kg ECM) bei Zulagen von pansengeschütztem Lysin oder pansengeschütztem Methionin und Lysin (Angaben: relativ zur unsupplementierten Kontrollration)

Table 8: Changes of milk protein concentration (percentage units) and milk yield (kg ECM) in response to rumen-protected lysine, which was supplemented alone or in combination with rumen-protected methionine, relative to the unsupplemented control diet

Zulagen	Met-Zulage (g/Kuh/Tag)	Lys-Zulage (g/Kuh/Tag)	Milch- protein	ECM (%)	Autor(en)
Met, Lys	10,0	10,0	0,46	0,50	BERTRAND et al. (1998)
Lys	0	11,7	0,11	-2,82	TŘINÁCTÝ et al. (2009)
Met, Lys	18,2	11,7	0,11	-0,38	TŘINÁCTÝ et al. (2009)
Lys	0	13,2	0,02	-0,40	ROBINSON et al. (2010)
Lys	0	15,0	0,11	0,27	BLAUWIEKEL et al. (1996)
Lys	0	15,0	0,09	0,01	RULQUIN et al. (1994a)
Met Lys	6,5	19,0	0,18	1,70	ROBINSON et al. (1994)
Met Lys	6,5	19,0	0,15	1,37	ROBINSON et al. (1994)
Lys	0	21,0	0,00	-0,23	ROBINSON et al. (1997)
Met, Lys	6,0	22,0	0,05	0,83	ROBINSON et al. (1997)
Met, Lys	8,0	27,0	0,00	4,85	XU et al. (1998)
Lys	0	30,0	0,16	-0,51	RULQUIN et al. (1994a)
Met, Lys	11,0	30,0	0,10	0,63	RULQUIN et al. (1994b)
Met, Lys	11,0	30,0	0,17	0,04	RULQUIN et al. (1994b)
Met, Lys	11,0	35,0	0,01	-0,66	PIEPENBRINK et al. (1996)
Met, Lys	15,0	40,0	0,10	0,89	DONKIN et al. (1989)
Met, Lys	13,0	40,0	0,23	7,18	XU et al. (1998)
Lys	0,0	41,0	0,06	2,53	ROBINSON et al. (2011)
Lys	0,0	45,0	0,19	0,20	RULQUIN et al. (1994a)
Met, Lys	22,0	70,0	0,02	-0,56	PIEPENBRINK et al. (1996)
Met, Lys	33,0	106,0	0,06	-0,40	PIEPENBRINK et al. (1996)

BACH et al. (2000) reduzierten den XP-Gehalt von 18 % auf 15 % der TM der gesamten Ration und fütterten beide Rationen ohne RPAA-Ergänzung oder mit folgenden Zulagen: 15 % XP plus 25 g/Tag RPMet und 18 % XP plus 50 g/Tag RPMet. Die Ergebnisse belegen, dass die Milchproteinsynthese in der Früh-laktation empfindlicher auf *Schwankungen im AA-Profil* des Proteins reagiert als auf unterschiedliche *XP-Niveaus* (18 vs. 15 % XP). Rationen für Kühe in der Früh-laktation mit nur 15 % XP bei optimiertem AA-Profil erbrachten die gleiche Milch- und Milchproteinleistung wie Rationen mit 18 % XP und einem unausgewogenem AA-Profil. SOCHA et al. (2005) verwiesen darauf, dass eine Reduktion des XP-Niveaus durchführbar ist, und zwar ohne offensichtliche negative Effekte auf die Milchproteinsynthese. Diese Aussage basierte auf Ergebnissen, nach denen eine XP-reduzierte, aber AA-bilanzierte Gruppe (16 % XP, CM- und CL-Zulage) mehr Milch; d. h. fett- und energiekorrigierte Milch, sowie höhere Milchfett- und -eiweißgehalte erreichte als die Kontrollgruppe (18,5 % XP, unbilanziert, ohne Zulagen).

RULQUIN et al. (1994b) beobachteten sogar bei einer Reduzierung der XP-Gehalte (von 15,1 % auf 13,3 % der TM) und RPLys-/RPMet-Zulagen keinerlei Einbußen in der Milchleistung, aber einen positiven Effekt auf die Milchproteinmenge und die Milchproteingehalte bei Kühen, welche die AA-Ergänzungen erhielten.

Wenn unter Beachtung der Leistungs- und Stoffwechselsituation der Milchkuh der AA-Bedarf als intestinal absorbierbare AA ausgedrückt und gedeckt werden kann, sind keine weiteren Effekte einer Zulage von RPAA zu erwarten (JOCHMANN et al. 1996). Folglich ist eine Ableitung/Einschätzung der erforderlichen Mengen an Met und Lys sowie des Met:Lys-Verhältnisses zu empfehlen. Dies gilt sowohl für die Kalkulation der Ration als auch für Ableitungen der absorbierbaren AA-Mengen im Dünndarm und deren intermediäre Verwertung (s. 3.1 - 3.3). Eine Reihe von Feldversuchen zur XP-Reduzierung bei HMBi-Supplementierung sprechen dafür, dass ein solches Konzept auch eine Umsetzung in die Praxis verdient. Es erfolgte eine geringfügige Absenkung des XP-Niveaus (von ursprünglich 14,8 % bis 18,5 % der TM auf 14,3 % bis 17,5 % der TM) bei gleichzeitiger Balancierung der AA (SCHRÖDER et al. 2010).

Neben einer Verringerung der XP-Gehalte in der Ration und einer Supplementierung mit RPAA wird das Verhältnis der erstlimitierenden AA zueinander als bedeutsam für die Vorhersage der Reaktionen von Milchproteingehalten und Milchleistung sowie der N-Effizienz erachtet. Es ist eben nicht nur entscheidend, welche AA-Mengen der Kuh zur Verfügung stehen, sondern auch, in welchem *Profil* absorbierbare AA vorliegen. SCHWAB et al. (1992) betonen, dass sich das optimale Lys:Met-Verhältnis für die Milchproteinmenge und -zusammensetzung und dementsprechend auch für die Einstufung dieser EAA als limitierend oder co-limitierend im Verlauf der Laktation (Früh-, Mittel- bis Spätlaktation) ändern kann. Dies könnte wiederum mit der im Laktationsverlauf sich verändernden quantitativen Bedeutung der intermediären Verwertungswege (Proteinsynthese gegenüber Gluconeogenese) zusammenhängen.

Die vorliegenden Befunde zur AA-Ergänzung mittels postruminaler Met- und Lys-Infusion bzw. einer Supplementierung von Rationen mit RPMet und RPLys können folgendermaßen zusammengefasst werden (NRC 2001; ERASMUS et al. 2004):

- Es ist eher eine Beeinflussung der Milchproteingehalte als der Milchleistung möglich und zu erwarten.
- Kasein erweist sich als die primär beeinflussbare Milchproteinfraktion (s. DONKIN et al. 1989).
- Eine Steigerung der Milchmengenleistung wurde meist in der Früh- und Hochlaktation

SCHUBA u. SÜDEKUM

beobachtet, weniger in der Mittel- und Spätlaktation.

- Ein Anstieg des Milchproteingehaltes korreliert nicht mit einer entsprechenden Veränderung des Milchleistungsniveaus.
- Die deutlichsten Effekte wurden bislang mit maissilagebetonten Rationen erreicht.
- Die kombinierte Zulage von Met und Lys führte zu deutlicheren Effekten als die Zulage nur einer der beiden AA.
- Die Effekte einer Rationsbalancierung auf eine günstigere Met- und Lys-Versorgung hin sind mit größerer Wahrscheinlichkeit zu erwarten, wenn eine solche Rationsanpassung bereits vor dem Kalben erfolgt.

Während XU et al. (1998) unter Verwendung der AA-Bilanzierung ante und post partum mittels des Cornell Net Carbohydrate and Protein Systems (CNCPS) von positiven Effekten auf die Milchleistung und die Milchproteingehalte sowie auf die Tiergesundheit berichteten, schlussfolgerte ROBINSON (2010) aus seiner umfangreichen Übersichtsarbeit, dass die Zulage von RPMet oder RPMet + RPLys meist nur geringe Auswirkungen auf die Produktionskenngrößen der Milchkuh hat. Die alleinige Zulage von RPLys hatte sogar zumeist negative Effekte. Insgesamt sei mit RPAA-Zulagen nur eine geringe Verbesserung der N-Effizienz bzw. eine geringe Reduktion des N-Austrags zu erreichen.

6 KALKULATIONSMODELLE: AMINOSÄURENBEDARF UND -VERSORGUNG

Ziel aller Modelle zur Schätzung der Menge an absorbierbaren AA im Dünndarm ist es, dem AA-Bedarf der Milchkuh möglichst nahe zu kommen. Das AA-Muster im nXP oder des im Dünndarm verdaulichen mikrobiellen XP und des UDP sowie das Verhältnis limitierender AA zueinander sollten bekannt sein, um eine Met- bzw. Lys-Bilanzierung vorzunehmen. Nur dann kann halbwegs sicher vorhergesagt werden, welche der AA limitierend wirken. Die vorhandenen Regressionsgleichungen basieren auf Dosis-Wirkungs-Experimenten mit variierenden Anteilen an Met und Lys im Protein, das im Dünndarm absorbiert werden kann. Methodisch werden zur Variation der Versorgung vor allem zwei Vorgehensweisen beschrieben: Eine postruminale AA-Infusion oder die Zulage der entsprechenden AA zum Futter als RPAA möglichst gut definierten Pansenschutzes. Bis im Blutplasma eine messbare Reaktion erfolgt, müssen bei Infusionsstudien zwei Tage vergehen, während RPAA-Ergänzungen etwa eine Woche Versuchsdauer erfordern, bevor überhaupt entsprechende Wirkungen auftreten können.

Das Hauptaugenmerk soll im Folgenden auf Met und Lys liegen, auch wenn die Vorhersagemodelle bereits für weitere AA angewandt und in Empfehlungen umgesetzt wurden (s. CHALUPA u. SNIFFEN 2010). Die ausgewählten Ansätze, mit denen der AA-Bedarf und die Versorgung kalkuliert werden, basieren auf folgenden Proteinbewertungsansätzen:

- metabolisierbares Protein (MP) (1)
- im Dünndarm verdauliches Protein
(PDI = protéines digestible dans l'intestin) (2)
- nXP und daraus abgeleitet die nAA. (3)

(1) Es werden die optimalen AA-Anteile im MP abgeleitet, bei denen sich aus der Regression der deutlichste Effekt für das jeweilige Leistungsmerkmal ergibt. Um den Milchproteingehalt zu maximieren, wurde ein Optimum von 7,2 % Lys und 2,4 % Met im MP ermittelt (SCHWAB u. ORDWAY 2004; SCHWAB u. FOSTER 2009). Das entspricht einem Lys:Met-Verhältnis von ~ 3. Für die Milchproteinmenge wurden Konzentrationen am MP von

7,1 % und 2,4 % definiert (SCHWAB u. FOSTER 2009). Die Vorhersagegenauigkeit ist für den Milchproteingehalt höher als für die Milchleistung. SCHWAB und ORDWAY (2004) empfehlen aber für maisbetonte Rationen, den Angaben des NRC (2001) folgend, leichter erreichbare/umzusetzende Werte von 6,6 % Lys und 2,2 % Met am MP bei gleichbleibendem Lys:Met-Verhältnis im MP von ~ 3.

ERASMUS et. al. (2004) fanden – mit nur geringen Abweichungen den obigen Empfehlungen folgend (7,2 % Lys und 2,4 % Met im MP) – mit einem flüssigen RPLys-Produkt lediglich einen Einfluss auf den Molkenproteinanteil bzw. Nicht-Kasein-N-Gehalt der Milch. Da weder der Milchproteingehalt noch der Milchkaseinanteil beeinflusst waren, wurde vermutet, dass das verwendete Produkt eine beeinträchtigte ruminale Beständigkeit oder intestinale Absorbierbarkeit gehabt haben könnte. Der entscheidende Schritt ist demnach die Auswahl solcher Proteinquellen und RPAA, mit denen das angestrebte Verhältnis von Lys und Met tatsächlich erreicht werden kann.

Unabhängig davon, auf welcher Stufe eine Rationsbilanzierung für AA erfolgt (MP, PDI oder nAA), erschweren die mangelnden Kenntnisse über die quantitative Aufteilung der AA auf die intermediären Verwertungswege eine zuverlässige Anwendung (s. 3). Die Schätzmodelle zum intestinalen AA-Bedarf und zur Anflutung können zudem die Variabilität in der Qualität von Grobfutter, der Genetik aber auch entsprechende Interaktionen zur Umwelt niemals gänzlich erfassen. Gerade die XP-Fraktion in Silagen zeigt eine erhebliche Variation im Reinprotein-Gehalt (> 70 bis unter 40 % des XP), so dass die AA-Gehalte in Silagen in Abhängigkeit von der Intensität der N-Umsetzung in der Silage selbst die Versorgung erheblich beeinflussen dürfte (siehe HOEDTKE et al. 2010). Dies limitiert alle Kalkulationsprogramme in der Sicherheit und Genauigkeit ihrer Vorhersage (SWANEPOEL et al. 2010).

Derzeit praxisreife Rationsberechnungsmodelle zur Schätzung des MP und seiner AA-Zusammensetzung sind z. B. das CNCPS, CPM Dairy, Shield sowie Amino Cow[®]. SWANEPOEL et al. (2010) führten einen Vergleich von CPM Dairy, Shield und Amino Cow[®] durch und berichteten, dass keines der Modelle in der Vorhersage limitierender AA für die geprüften Rationen den anderen überlegen war. Abweichungen traten vor allem zwischen geschätztem AA-Bedarf und der AA-Zufuhr auf. MACRAE und BEEVER (1997) und DOEPEL et al. (2004) bemängelten, dass die meisten Modelle die Milchproteinmenge bei erhöhter XP-Aufnahme deutlich überschätzen. Ursächlich für diese Überschätzung dürfte die unterstellte konstante Effizienz der Umwandlung verdaulicher oder absorbierbarer AA zu Milchprotein sein (DOEPEL et al. 2004). DOEPEL et al. (2004) und LAPIERRE et al. (2010) favorisieren die Anwendung variabler Verwertungskoeffizienten für alle EAA, lassen aber offen, wie diese variable Faktoren zuverlässig abgeleitet werden könnten, obwohl etwa LAPIERRE et al. (2010) die verschiedenen zugrundeliegenden Stoffwechselwege sehr präzise charakterisieren.

(2) Wenn statt des MP das im Dünndarm verdauliche Protein bzw. die AA als zentrale Größe betrachtet werden, ergibt sich eine analoge Vorgehensweise. Ausgangspunkt der Arbeiten von RULQUIN et al. (1993) war die Überlegung, dass in den Proteinbewertungssystemen die Proteinfractionen UDP, Mikrobenprotein und endogenes Protein bereits differenziert vorliegen. Die Herausforderung war, den Fraktionen eine passende AA-Zusammensetzung zuzuordnen, um von einem Proteinbewertungssystem hin zu einem AA-System zu gelangen. Entsprechend werden die aus dem Dünndarm absorbierbaren Mengen an Lys und Met (LysDI und MetDI) als Anteile am gesamten dünndarmverdaulichen Protein angegeben (% des PDI; RULQUIN et al. 1993). Basis dieser Ableitungen waren 57 Versuche mit insgesamt 164 verschiedenen Rationen. Ähnlich wie beim MP-System wird in Dosis-Wirkungs-

SCHUBA u. SÜDEKUM

Regressionen dargestellt, bei welcher Dosis (AADI/PDI) ein Maximum hinsichtlich des Milchproteins (Gehalt und Menge) beschrieben werden kann. Die täglich gebildete Milchproteinmenge (dPY) kann dann in Abhängigkeit vom LysDI- und MetDI-Anteil am PDI über die nachfolgend angegebenen Gleichungen geschätzt werden. Ausgegangen werden zunächst, abgeleitet aus Versuchsdaten, Referenzkonzentrationen (% des PDI) von 7,0 % LysDI bzw. 2,1 % MetDI:

$$dPY \text{ (g/Tag)} = 21,0 \cdot \{1 - \exp[-1,15 (\text{LysDI} - 7,0)]\}$$

$n = 63; r^2 = 0,87; \text{Variationskoeffizient} = 21,0$

$$dPY \text{ (g/Tag)} = 34,1 \cdot \{1 - \exp[-1,90 (\text{MetDI} - 2,1)]\}$$

$n = 37; r^2 = 0,81; \text{Variationskoeffizient} = 11,7$

Die sich aus den Gleichungen ergebenden täglich gebildeten Milchproteinmengen konnten dann genutzt werden, um die erforderlichen Konzentrationen von LysDI und MetDI im PDI von 7,3 % und 2,5 % für die Optimierung der Milchproteinsynthese unter typischen Produktionsbedingungen abzuleiten RULQUIN et al. (1993). Das Verhältnis LysDI:MetDI liegt wie beim MP ebenfalls bei etwa ~ 3.

(3) SCHRÖDER et al. (2008) erarbeiteten einen Vorschlag, in dem auf der Basis des nXP-Systems (GfE 2001) die Bedarfsdeckung der Milchkuh an nLys und nMet kalkuliert wurde. Grundlage hierfür waren Analogien zum PDI-System. Der AA-Bedarf der Milchkuh an Lys und Met wurde abgeleitet und die Ration hinsichtlich der AA-Gehalte bewertet, um daraus eine nAA-Zufuhr am Duodenum ableiten zu können. Weiter wurde unterstellt, dass die Differenz im AA-Profil zwischen dem Futter-XP und dem UDP vernachlässigbar gering ist. Das AA-Profil des Mikroben-XP wurde ebenfalls als konstant angenommen, da die vorhandene Variation bisher nicht zuverlässig geschätzt werden kann: 7,8 g Lys/100 g XP und 2,4 g Met/100 g XP werden als mittlere AA-Gehalte für das Mikroben-XP angenommen. Basierend auf den geschilderten Ableitungen können die Konzentrationen an nLys und nMet wie folgt berechnet werden (g/kg TM):

$$nXLys = [11,93 - (6,82 \cdot (\text{UDP}/\text{XP}))] \cdot \text{ME} \cdot 7,79^1 + 1,03 \cdot \text{UDP} \cdot \text{Futter-Lys}^2$$

$$nXMet = [11,93 - (6,82 \cdot (\text{UDP}/\text{XP}))] \cdot \text{ME} \cdot 2,43^1 + 1,03 \cdot \text{UDP} \cdot \text{Futter-Met}^2$$

¹⁾ Lys- bzw. Met-Anteil am Mikrobenprotein (g/100 g XP)

²⁾ Lys- bzw. Met-Gehalt im Futtermittel (g/100 g XP)

Abgeleitet aus den Dosis-Wirkungsbeziehungen des PDI-Systems gaben SCHRÖDER et al. (2008) erste Empfehlungen zur Versorgung der Milchkuh mit nLys und nMet (Tab. 9). Dieser Ansatz erscheint prinzipiell geeignet, unter Beibehaltung der grundsätzlichen Struktur des nXP-Systems eine sinnvolle Erweiterung um limitierende EAA vorzunehmen.

Tabelle 9: Richtwerte zur Versorgung von Milchkühen mit nutzbarem Met (nMet) und nutzbarem Lys am Duodenum (nLys; modifiziert nach SCHRÖDER et al. 2008)

Table 9: Guidance values for the supply of dairy cows with utilisable methionine (nMet) and lysine at the duodenum (nLys; according to SCHRÖDER et al. 2008, modified)

Kenngröße	Versorgung mit		Anzustrebendes Verhältnis nLys:nMet
	nMet	nLys	
Volle Bedarfsdeckung (g/100 g nXP)	2,80	7,50	2,70
Praktische Empfehlung ¹⁾ (g/100 g nXP)	2,60	7,10	2,70
Kritische Untergrenze (g/100 g nXP)	2,40	6,90	2,90

¹⁾ Die praktische Empfehlung ermöglicht einen Milchproteingehalt, der nur um 0,5 g/kg Milch niedriger liegt als bei voller Bedarfsdeckung.

7 FAZIT

In der vorliegenden Übersicht sollte mehr als 15 Jahre nach einer ähnlichen Arbeit von JOCHMANN et al. (1996) der gegenwärtige Stand zum Thema „pansengeschützte AA in der Fütterung von Milchkühen“ mit einem Schwerpunkt auf Met und Lys analysiert werden. Durch Zulage von CM und HMBi wurden wiederholt positive Effekte auf die Milchleistung und den Milchproteingehalt erzielt. Dies gilt vor allem für *maissilagebetonte* Rationen. Zusätzlich muss das XP-Niveau der Ration berücksichtigt werden, weil bei überhöhten XP-Gehalten in der Ration eine Unterversorgung mit Met und Lys am Dünndarm weniger wahrscheinlich ist. Vorhersage- oder Kalkulationsmodelle benötigen für eine Bedarfsableitung für einzelne AA zuverlässige Regressionsgleichungen, um mit hoher Wahrscheinlichkeit mögliche Auswirkungen von RPMet- oder RPLys-Zulagen auf die Milchproteinsynthese oder die Milchleistung zu prognostizieren. Dabei bestehen – nach wie vor – grundlegende Schwierigkeiten in der Quantifizierung der intermediären Verwertung, z. B. welcher Anteil an absorbierten AA in die Milchproteinsynthese geht oder für die Gluconeogenese gebraucht wird. Dies kann in Abhängigkeit von Leistungsniveau, Energieversorgung, Rationszusammensetzung, genetischer Veranlagung des Tieres und anderen Faktoren sehr variabel sein. Dadurch wird u. a. auch erklärt, warum RPAA- oder UDP-Zulagen trotz vermeintlich zuverlässiger Bedarfsableitung und Schätzung der Versorgung häufig ohne Wirkung auf die Milchleistung bleiben. Andere Größen wie das AA-Muster des mikrobiellen XP und des UDP bei hohen TM-Aufnahmen dürften demgegenüber eher und leichter in Prognosemodelle zu integrieren sein und damit ebenfalls einen Beitrag zur besseren Einschätzung der AA-Versorgung hochleistender Milchkühe liefern.

SCHUBA u. SÜDEKUM

8 SCHRIFTTUM

- ANONYM (2001): Verordnung (EG) Nr. 999/2001 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. Mai 2001 mit Vorschriften zur Verhütung, Kontrolle und Tilgung bestimmter transmissibler spongiformer Enzephalopathien. Amtsbl. Europ. Gemeinschaft. 147, 1-40
- ARDALAN, M., M. DEGHAN-BANADAKY u. K. REZAYAZDI (2010): Milk yield persistency and its relationship with health problems in holstein dairy cows supplemented with different levels of ruminally protected methionine and choline. *Archiv Tierzucht* 53, 266-276
- BACH, A., G.B. HUNTINGTON, S. CALSAMIGLIA u. M.D. STERN (2000): Nitrogen metabolism of early lactation cows fed diets with two different levels of protein and different amino acid profiles. *J. Dairy Sci.* 83, 2585-2595
- BERGNER, H., W. BAREY, K. BODA, M. CHOMYSZYN, N. IWANOV, B. JUHASZ, A.N. KOSCHAROW, B. PIATKOWSKI, N.A. SCHAMENKOW, J.A. SOKOLOW u. A. ZIOLECKA (1980): NPN-Verbindungen in der Tierernährung. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin
- BERTRAND, J.A., F.E. PARDUE u. T.C. JENKINS (1998): Effects of ruminally protected amino acids on milk yield and composition of jersey cows fed whole cottonseed. *J. Dairy Sci.* 81, 2215-2220
- BLAUWIEKEL, R., S. XU, J.H. HARRISON, K.A. LONEY, R.E. RILEY u. M.C. CALHOUN (1996): Effect of whole cottonseed, gossypol, and ruminally protected lysine supplementation on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 80, 1358-1365
- BLUM, J.W., R.M. BRUCKMAIER u. F. JANS (1999): Rumen-protected methionine fed for dairy cows: Bioavailability and effects on plasma amino acid pattern and plasma metabolite and insulin concentrations. *J. Dairy Sci.* 82, 1991-1998
- BOUCHER, S.E. (2009): Challenges of predicting metabolizable lysine content of ingredients. *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manufact.* S. 16-28
- BREVES, G. u. M. RODEHUTSCORD (1999): Gibt es Grenzen in der Zucht auf Milchleistung? – Aus Sicht der Physiologie. *Züchtungskde.* 71, 420-427
- BRODERICK, G.A., L.D. SATTER, u. A.E. HARPER (1974): Use of plasma amino acid concentration to identify limiting amino acids for milk production. *J. Dairy Sci.* 57, 1015-1023
- BRÜSEMEISTER, F. u. K.-H. SÜDEKUM (2006): Rumen-protected choline for dairy cows: the in situ evaluation of a commercial source and literature evaluation of effects on performance and interactions between methionine and choline metabolism. *Anim. Res.* 55, 93-104
- CAN, A., J. HUMMEL, N. DENEK u. K.-H. SÜDEKUM (2011): Effects of non-enzymatic browning reaction intensity on in vitro ruminal protein degradation and intestinal protein digestion of soybean and cottonseed meals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163, 255-259
- CHALUPA, W. u. C. SNIFFEN (2010): Balancing for amino acids beyond lysine and methionine. *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manufact.* S. 1-12
- CHEN, Z.H., G.A. BRODERICK, N.D. LUCHINI, B.K. SLOAN u. E. DEVILLARD (2011): Effect of different sources of rumen-protected methionine on milk production and N-utilisation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94, 1978-1988
- CLARK, J.H. (1975): Lactational response to postprandial administration of protein and amino acids. *J. Dairy Sci.* 58, 1178-1197
- CLARK, J.H., T.H. KLUSMEYER u. M.R. CAMERON (1992): Symposium: Nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75, 2304-2323
- COENEN, M. (1996): Protein- und Aminosäurenversorgung der Milchkuh. *Übers. Tierernährg.* 24, 41-51
- DANFÆR, A. (1999): Nutrient flow across the liver in dairy cows. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 8, 13-25
- DANFÆR, A., V. TETENS u. N. AGERGAARD (1995): Review and an experimental study on the physiological and quantitative aspects of gluconeogenesis in lactating ruminants. *Comp. Biochem. Physiol.* 111, 201-210
- DEGUSSA (2001): The Amino Acid Composition of Feedstuffs. 5th completely revised edition. Degussa AG Feed Additives, Hanau
- DINN, N.E., J.A. SHELFORD u. L.J. FISHER (1998): Use of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81, 229-237
- DOEPPEL, L., D. PACHECO, J.J. KENNELLY, M.D. HANIGAN, I.F. LOPEZ u. H. LAPIERRE (2004): Milk protein synthesis as a function of amino acid supply. *J. Dairy Sci.* 87, 1279-1297

- DONKIN, S.S., G.A. VARGA, T.F. SWEENEY u. L.D. MULLER (1989): Rumen-protected methionine and lysine: Effects on animal performance, milk protein yield, and physiological measures. *J. Dairy Sci.* 72, 1484-1491
- DRACKLEY, J.K. (1999): Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.* 82, 2259-2273
- ENGELHARDT, W. VON u. G. BREVES (2010): Physiologie der Haustiere. 3., vollständig überarbeitete Auflage, Enke Verlag, Stuttgart
- ENGELHARDT, T. u. L. HELM (1998): Pansenstabiles DL-Methionin in der Milchkuhfütterung. *Kraftfutter/Feed Magazine* 10, 424-436
- ERASMUS, L.J., R. VENTER u. R.J. COERTZE (2004): The effect of a liquid rumen protected lysine on the productivity of Holstein cows. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 34, 89-91
- FLACHOWSKY, G., P. LEBZIEN u. U. MEYER (2000): Zur Fütterung von Hochleistungskühen. *Züchtungskde.* 72, 471-485
- FLACHOWSKY, G., P. LEBZIEN u. U. MEYER (2009): Energie- und Nährstoffbedarfsableitung für Hochleistungskühe. *Züchtungskde.* 81, 429-441
- FOX, D.G., L.O. TEDESCHI, T.P. TYLUTKI, J.B. RUSSELL, M.E. VAN AMBURGH, L.E. CHASE, A.N. PELL u. T.R. OVERTON (2004): The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 112, 29-78
- GrE -Gesellschaft für Ernährungsphysiologie- (2001): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder. DLG-Verlag, Frankfurt am Main
- GRAULET, B., C. RICHARD u. J.C. ROBERT (2005): Methionine availability in plasma of dairy cows supplemented with methionine hydroxyl analog isopropyl ester. *J. Dairy Sci.* 88, 3640-3649
- HARSTAD, O.M. u. E. PRESTLØKKEN (2000): Effective rumen degradability and intestinal indigestibility of individual amino acids in solvent-extracted soybean meal (SBM) and xylose-treated SBM (SoyPass[®]) determined in situ. *Anim. Feed Sci. Technol.* 83, 31-47
- HIPPENSTIEL, F., K.-H. SÜDEKUM, U. MEYER u. G. FLACHWOSKY (2012): Co-products from biofuel production for farm animals – an EU perspective. In: MAKKAR, H.P.S. (Hrsg.): Biofuel Co-products as Livestock Feed – Opportunities and Challenges. FAO, Rom, S. 209-227
- HOEDTKE, S., M. GABEL, u. A. ZEYNER (2010): Der Proteinabbau im Futter während der Silierung und Veränderungen in der Zusammensetzung der Rohproteinfraktion. *Übers. Tierernährg.* 38, 157-179
- HUBER, J.T., R.S. EMERY, W.G. BERGEN, J.S. LIESMANN, L. KUNG, Jr., K.J. KING, R.W. GARDNER u. M. CHECKETTS (1984): Influences of methionine hydroxy analog on milk and milk fat production, blood serum lipids, and plasma amino acids. *J. Dairy Sci.* 67, 2525-2531
- INRA -Institute National de la Recherche Agronomique- (1989): Ruminant Nutrition - Recommended Allowances and Feed Tables. R. JARRIGE (Hrsg.). John Libbey Eurotext, London/Paris
- JEROCH, H., W. DROCHNER u. O. SIMON (1999): Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, S. 129
- JOCHMANN, K., P. LEBZIEN u. G. FLACHOWSKY (1996): Zum Einsatz pansenstabiler Aminosäuren in der Milchviehfütterung. *Übers. Tierernährg.* 24, 255-292
- JOHNSON-VAN WIERINGEN, L.M., J.H. HARRISON, D. DAVIDSON, M.L. SWIFT, M.A.G. VON KEYSERLINGK, M. VAZQUEZ-ANON, D. WRIGHT u. W. CHALUPA (2007): Effects of rumen-undegradable protein sources and supplemental 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid and lysine HCl on lactation performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 5176-5188
- KAMPHUES, J. (2010): Goals and intentions of the workshop. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 19, 2010, 157-159
- KERSTEN J., H.D. RHODE u. E. NEF (2010): Mischfutterherstellung: Rohware, Prozesse. 3. Aufl. Agrimedia, Clenze
- KEHRAUS, S., K.-H. SÜDEKUM u. E. PFEFFER (2006): Einflussfaktoren auf die Ausscheidung N-haltiger Verbindungen im Harn von Wiederkäuern. *Übers. Tierernährg.* 34, 125-164
- KIRCHGESSNER, M. (1997): Tierernährung. Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis. 10. Auflage. Verlags-Union Agrar, Frankfurt a. M./München/Münster/Wien/Wabern
- KOENIG, K.M. u. L.M. RODE (2001): Ruminant degradability, intestinal disappearance, and plasma methionine response of rumen-protected methionine in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84, 1480-1487
- LAPIERRE, H., D.R. OUELLET, R. MARTINEAU, C. CORTES, G. RAGGIO u. L. DOEPEL (2010): From crude protein intake to absorbed amino acids to milk protein. *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manufact.* S. 25-38

SCHUBA u. SÜDEKUM

- LEBZIEN, P. (1997): Zum Einfluss des Futterproteins auf das Aminosäurenmuster des Proteins am Duodenum von Wiederkäuern. Übers. Tierernährg. 25, 137-153
- LICITRA, G., T.M. HERNANDEZ u. P.J. VAN SOEST (1996): Standardization of procedures for nitrogen fractions of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 57, 347-358
- LUNDQUIST, R.G., D.E. OTTERBY u. J.G. LINN (1985): Influence of three concentrations of DL-methionine or methionine hydroxyl analog on milk yield and composition. J. Dairy Sci. 68, 3350-3354
- MAAS, J.A., J. FRANCE, J. DIJKSTRA, A. BANNINK u. B.W. McBRIDE (1998): Application of a mechanistic model to study competitive inhibition of amino acid uptake by the lactating bovine mammary gland. J. Dairy Sci. 81, 1724-1734
- MACRAE, J.C. u. D.E. BEEVER (1997): Predicting amino acid supply and utilization in the lactating ruminant. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 6, 15-30
- MATTHÉ, A., P. LEBZIEN u. G. FLACHOWSKY (2000): Zur Bedeutung von Bypass-Stärke für die Glucoseversorgung von hochleistenden Milchkühen. Übers. Tierernährg. 28, 1-64
- MCCRACKEN, B.A., M.B. JUDKINS, L.J. KRYSL, D.W. HOLCOMBE u. K.K. PARK (1993): Supplemental methionine and time of supplementation effects on ruminal fermentation, digesta kinetics, and in situ dry matter and neutral detergent fiber disappearance in cattle. J. Anim. Sci. 71, 1932-1939
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Nat. Acad. Sci., Washington, DC
- NOCEK, J.E., u. J.R. RUSSELL (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
- NOFTSGER, S. u. N.R. ST-PIERRE (2003): Supplementation of methionine and selection of highly digestible rumen undegradable protein to improve nitrogen efficiency for milk production. J. Dairy Sci. 86, 958-969
- OVERTON, T.R., D.W. LACOUNT, T.M. CICELA u. J.H. CLARK (1996): Evaluation of a ruminally protected methionine product for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 79, 631-638
- OVERTON, T.R., L.S. EMMERT u. J.H. CLARK (1998): Effects of source of carbohydrate and protein and rumen-protected methionine on performance of cows. J. Dairy Sci. 81, 221-228
- OVERTON, T.R. u. M.R. WALDRON (2004): Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. J. Dairy Sci. 87 (E. Suppl.), E105-E119
- PIEPENBRINK, M.S., T.R. OVERTON u. J.H. CLARK (1996): Responses of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine. J. Dairy Sci. 79, 1638-1646
- ROBERT, J.C., T. D'ALFONSO, G. ETAVE, E. DEPRES u. B. BOUZA (2002): Quantifying the metabolisable methionine contribution of a liquid or powder presentation of 2-hydroxy-4(methyl thio) butanoic acid isopropyl ester (HMBi). J. Dairy Sci. 85 (Suppl. 1), 71
- ROBERT, J.C., C. RICHARD u. B. BOUZA (2001): Influence of monomer or dimer forms of iso-propyl ester of HMB, on the supply of metabolisable methionine to the blood of ruminants. J. Dairy Sci. 84 (Suppl. 1), 281
- ROBINSON, P.H. (2010): Impacts of manipulating ration metabolizable lysine and methionine levels on the performance of lactating dairy cows: A systematic review of the literature. J. Livestock Sci. 127, 115-126
- ROBINSON P.H., W. CHALUPA, C.J. SNIFFEN, W.E. JULIEN, H. SATO, K. WATANABE, T. FUJIEDA u. H. SUZUKI (1997): Ruminally protected lysine or lysine and methionine for lactating dairy cows fed a ration designed to meet requirements for microbial and postruminal Protein. J. Dairy Sci. 81, 1364-1373
- ROBINSON, P.H., A.H. FREDEEN, W. CHALUPA, W.E. JULIEN, H. SATO, T. FUJIEDA u. H. SUZUKI (1994): Ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows fed a diet designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. J. Dairy Sci. 78, 582-594
- ROBINSON, P.H., N. SWANEPOEL u. E. EVANS (2010): Effects of feeding a ruminally protected lysine product, with or without isoleucine, valine and histidine, to dairy cows on their productive performance and plasma amino acid profiles. Anim. Feed Sci. Technol. 161, 75-84
- ROBINSON, P.H., N. SWANEPOEL, I. SHINZANTO u. S.O. JUCHEM (2011): Productive responses of lactating dairy cattle to supplementing high levels of ruminally protected lysine using a rumen protection technology. Anim. Feed Sci. Technol. 168, 30-41
- ROGERS, J.A., S.B. PEIRCE-SANDNER, A.M. PAPAS, C.E. POLAN, C.J. SNIFFEN, T.V. MUSCATO, C.R. STAPLES u. J.H. CLARK (1988): Production responses of dairy cows fed various amounts of rumen-protected methionine and lysine. J. Dairy Sci. 72, 1800-1817
- RULQUIN, H., R. VÉRITÉ, J. GUINARD-FLAMENT u. P.M. PISULEWSKI (2001): Acides amines digestibles dans l'intestine. Origines des variations chez les ruminants et repercussion sur les protéines du lait. INRA Prod. Anim. 14, 201-210
- RULQUIN, H. u. L. DELABY (1997): Lactational response of grazing dairy cows to rumen-protected methionine. Ann. Zootech. 46, 409-415

- RULQUIN, H., J. GUINARD u. R. VÉRITÉ (1998): Variation of amino acid content in the small intestine digesta of cattle: development of a prediction model. *Livest. Prod. Sci.* 53, 1-13
- RULQUIN, H., C. HURTAUD u. L. DELABY (1994a): Effects of graded levels of rumen-protected lysine on milk production in dairy cows. *Ann. Zootech.* 43, 245
- RULQUIN, H., C. HURTAUD u. L. DELABY (1994b): Effects of dietary protein levels on lactational response of dairy cows to rumen-protected methionine and lysine. *Ann. Zootech.* 43, 245
- RULQUIN, H. u. J. KOWALCZYK (2003): Development of a method for measuring lysine and methionine bioavailability in rumen-protected products for cattle. *J. Anim. Feed Sci.* 12, 465-474
- RULQUIN, H., P.M. PISULEWSKI, R. VÉRITÉ u. J. GUINARD (1993): Milk production and composition as a function of post-ruminal lysine and methionine supply: a nutrient-response approach. *Livest. Prod. Sci.* 37, 69-90
- SCHRÖDER, A., R. BENNETT u. H. RULQUIN (2008): Rationsgestaltung mit Aminosäuren: Das nXAA-System – eine Erweiterung des nXP-Systems. *VDLUFA-Schriftenreihe* 64, 305-312
- SCHRÖDER, A., I. EISNER u. R. BENNETT (2010): Erhebungen zum Einfluß von pansengeschtztem Methionin auf Leistungsparameter, Wirtschaftlichkeit und Effizienz der Stickstoffverwertung in protein-reduzierten Milchviehrationen. 122. *VDLUFA-Kongress, Kiel, Kurzfassungen der Referate*, S. 137
- SCHWAB, C.G., C.K. BOZAK, N.L. WHITEHOUSE u. M.M.A. MESBAH (1992): Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequence of lysine and methionine limitation. *J. Dairy Sci.* 75, 3486-3502
- SCHWAB, C.G. (1995): Protected proteins and amino acids for ruminants. In: WALLACE, R.J. u. A. CHESSON (Hrsg.): *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, S. 115-141
- SCHWAB, C.G. u. G.N. FOSTER (2009): Maximizing milk components and metabolizable protein utilisation through amino acid formulation. *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manufact.* S. 1-16
- SCHWAB, C.G. u. R.S. ORDWAY (2004): Balancing diets for amino acids: Implications on production efficiency and feed costs. *Proceedings of the Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop*, October 26-27th, Grantville, PA
- SCHWAB, C.G., N.L. WHITEHOUSE, A.M. MCLAUGHLIN, R.K. KADARIYA, N.R. ST-PIERRE, B.K. SLOAN, R.M. GILL u. J.C. ROBERT (2001): Use of milk protein concentrations to estimate the "methionine bioavailability" of two forms of 2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid (HMB) for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 84 (Suppl. 1), 35
- SHANNAK, S., K.-H. SÜDEKUM u. A. SUSENBETH (2000): Estimating ruminal crude protein degradation with in situ and chemical fractionation procedures. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85, 195-214.
- SOCHA, M.T., D.E. PUTNAM, B.D. GARTHWAITE, N.L. WHITEHOUSE, N.A. KIERSTEAD, C.G. SCHWAB, G.A. DUCHARME u. J.C. ROBERT (2004): Improving intestinal amino acid supply of pre- and postpartum dairy cows with rumen-protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 88, 1113-1126
- SPIEKERS, H. u. E. PFEFFER (1991): Umweltschonende Ernährung von Schwein und Rind mit Stickstoff und Phosphor. *Übers. Tierernährg.* 19, 201-246
- SPIEKERS, H., K.-H. SÜDEKUM, T. ENGELHARD, K. MAHLKOW-NERGE u. M. PRIES (2012): Einsatz von Rapsextraktionsschrot in der Milchkuhfütterung. *UFOP-Praxisinformation*, aktualisierte Auflage. UFOP, Berlin
- ST-PIERRE, N.R. u. J.T. SYLVESTER (2005): Effects of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid (HMB) and its isopropyl ester on milk production and composition by Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88, 2487-2497
- SÜDEKUM, K.-H. (2002): Grundlagen internationaler Futterbewertungssysteme für Milchkühe und Perspektiven für die deutschen Empfehlungen (Energie, Protein und Aminosäuren). *Übers. Tierernährg.* 30, 135-162
- SÜDEKUM, K.-H. (2004): Proteinbewertung und Proteinversorgung in der Milchviehfütterung (nXP- und UDP-Bestimmung, Routineanalytik, Aminosäurenversorgung). 31. *Viehwirtschaftliche Fachtagung*, 27.-28. April 2004, Bericht BAL Gumpenstein, Irnding, S. 1-9
- SÜDEKUM, K.-H., S. WOLFFRAM, P. ADER u. J.-C. ROBERT (2004): Bioavailability of three ruminally protected methionine sources in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 113, 17-25
- SWANEPOEL, N., P.H. ROBINSON u. L.J. ERASMUS (2010): Amino acid needs of lactating dairy cows: Predicting limiting amino acids in contemporary rations fed to high producing dairy cattle in California using metabolic models. *Anim. Feed Sci. Technol.* 161, 103-120
- TEFENTHALLER, F. (2007): Heimische Eiweißfuttermittel – Koppelprodukte der Energieproduktion. 34. *Viehwirtschaftliche Fachtagung*, 19.-20. April 2007, Bericht BAL Gumpenstein, Irnding, S. 81-87

SCHUBA u. SÜDEKUM

- TŘINÁCTÝ, J., L. KRÍŽOVÁ, M. RICHTER, V. ČERNÝ u. J. ŘÍHA (2009): Effect of rumen-protected methionine, lysine or both on milk production and plasma amino acids of high-yielding dairy cows. *Czech J. Anim. Sci.* 54, 239-248
- ULBRICH, M., M. HOFFMANN u. W. DROCHNER (2004): *Fütterung und Tiergesundheit*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (Hohenheim)
- UNIVERSITÄT HOHENHEIM – DOKUMENTATIONSSTELLE (1997): *DLG-Futterwerttabellen Wiederkäuer*. 7., erweiterte und überarbeitete Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt
- VAN SOEST, P.J. (1994): *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd. Editon. Cornell University Press, Ithaca, NY, S. 173
- WEEKES, T.L., P.H. LUIMES u. J.P. CANT (2006): Responses to amino acid imbalances and deficiencies in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 89, 2177-2187
- WRIGHT, M.D. u. S.C. LOERCH (1988): Effects of rumen-protected amino acids on ruminant nitrogen balance, plasma amino acid concentrations and performance. *J. Anim. Sci.* 66, 2014-2027
- XU, S., J.H. HARRISON, W. CHALUPA, C. SNIFFEN, W. JULIEN, H. SATO, T. FUJIEDA, K. WATANABE, T. UEDA u. H. SUZUKI (1998): The effect of ruminal bypass lysine and methionine on milk yield and composition of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81, 1062-1077
- YANG, W.R., H. SUN, Q.Y. WANG, F.X. LIU u. Z.B. YANG (2010): Effects of rumen-protected methionine on dairy performance and amino acid metabolism in lactating cows. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 5, 1-7

CHAPTER 4

Nitrogen supply in cattle coupled with appropriate supply of utilisable crude protein at the duodenum, a precursor to metabolisable protein

E. Pfeffer^a, J. Schuba^{b*} and K.-H. Südekum^a

^aInstitute of Animal Science, University of Bonn

^bInstitute of Agricultural and Nutritional Science, University of Halle-Wittenberg

*e-mail: janschuba@aol.com

Published in *Archives of Animal Nutrition* (2016) 70: 293 – 306.

This is an original article published by Taylor & Francis in *Archives of Animal Nutrition* on April 2016, available at <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1745039X.2016.1182304>.

Reprinted with permission.

Nitrogen supply in cattle coupled with appropriate supply of utilisable crude protein at the duodenum, a precursor to metabolisable protein

Ernst Pfeffer^a, Jan Schuba^b and Karl-Heinz Südekum^a

^aInstitute of Animal Science, University of Bonn, Bonn, Germany; ^bInstitute of Agricultural and Nutritional Science, University of Halle, Halle, Germany

ABSTRACT

The overall objective of this study was to calculate the amount of nitrogen (N) that cattle feed must contain in order to utilise the potential supply of utilisable crude protein at the duodenum provided by their energy intake without incurring a negative N balance, that is, without having to break down body protein. For this purpose, the literature was screened for measurements of net degradation and renal excretion of urea as well as N balances (N intake, faecal N and urinary N) in ruminants (cattle, sheep and goats) fed diets with varying N concentrations. Irreversible loss of N from the body urea pool increased with increasing N intake, but net degradation of urea as a proportion of irreversible loss decreased concurrently. Faecal N appeared not to be influenced by N intake and exceeded 11 g/kg dry matter intake (DMI) only in 7% of the data sets available. Urinary non-urea-N rarely exceeded 4 g/kg DMI and appeared independent of N intake. Urinary urea-N showed a clear dependence of N intake, and it is concluded that 1 g N/kg DMI is sufficient for compensating inevitable N losses in the form of urinary urea. In conclusion, ruminant rations should contain the following N concentrations (per kg DM) to account for obligatory losses: 11 g for compensating losses as faecal N, 4 g for compensating losses as urinary non-urea-N and 1 g for compensating inevitable losses as urinary urea-N. The derived recommendations should be helpful for limiting N excretion where this is desirable for ecological reasons.

ARTICLE HISTORY

Received 11 January 2016
Accepted 15 April 2016

KEYWORDS

Cattle; excretion; goats; nitrogen; recommendations; ruminants; sheep; supply; urea

1. Introduction

Like all higher animals, ruminants require essential amino acids (AA) and amino-nitrogen (N) in order to synthesise non-essential AA. The latter can, in part, also be synthesised from ammonia, given that appropriate carbon skeletons are available. Requirements for essential AA, and amino-N for non-essential AA, must be met by absorption of relevant compounds from the small intestine. However, unlike mono-gastric mammals, ruminants do not require all of these compounds to be present in their feed; their main source of essential AA is protein produced by ruminal micro-organisms which are able to synthesise all essential AA. It is therefore logical that

CONTACT Jan Schuba  janschuba@aol.com

© 2016 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

various protein evaluation systems view the flow of protein into the small intestine – rather than the protein contained in feed – as the crucial factor in supplying ruminants with AA (Schuba and Südekum 2013), for example, in the form of “utilisable crude protein at the duodenum (uCP)” (Lebzien and Voigt 1999; GfE 2001), a precursor to metabolisable protein. The uCP can be estimated as follows (GfE 2001):

$$\text{uCP [g/d]} = (\text{Flow of non-ammonia N at the duodenum}) \cdot 6.25 \text{ [g/d]} \\ - \text{Endogenous CP [g/d]}.$$

For N efficiency in ruminants, it is important that the N required for microbial growth need not be supplied entirely from feed, as endogenous urea can be transferred to the gastrointestinal tract where it is hydrolysed by microbial urease, thereby supplying ammonium as an N source for the microorganisms. In their overview of N metabolism in the rumen, Walker et al. (2005) pointed out that low N-content of feed is a precondition for efficient use of this system, that is, utilisation of endogenous urea, which recycles a metabolic end product as a nutrient.

Minimising N excretion is regarded as an environmental necessity in many circumstances (Spiekers and Pfeffer 1991; Coenen 1996; Yang et al. 2010). It therefore appears desirable to achieve an appropriate uCP supply with a minimal N supply, that is, a very negative “ruminal N balance”, and thereby to make maximum use of the opportunities for utilising endogenous urea offered by the “rumino-hepatic cycle”. In the present article, we attempted to calculate the amount of N that cattle feed must contain in order for the animals to utilise the potential supply of uCP provided by their energy intake without incurring a negative total body N balance, that is, without having to break down body protein.

2. N excretion in faeces and urine

The differentiation of urinary N excretion into a comparatively constant “endogenous” fraction on the one hand and an “exogenous” fraction which varies with crude protein intake on the other hand was formulated over a century ago (Folin 1905), without taking account of the differences that are now generally recognised to exist between monogastric animals and ruminants. Mitchell (1955, 1962) confirmed the validity of Folin’s concept of “dichotomy in protein metabolism”, which states that the constant endogenous component can be regarded as the consequence of breakdown and replacement of protein structures and simple compounds by irreversible reactions such as the conversion of creatine to creatinine (Lindberg and Jacobsen 1990; Kehraus et al. 2006) and the exogenous component as a measure of excess feed-N in the metabolism.

The differentiation of N excreted in urine into an “endogenous” and an “exogenous” fraction was adopted by the UK Agricultural Research Council (ARC 1965) as an important component of the factorial estimation of nutrient requirements. “Endogenous” urinary N was equated with the “N minimum” in the urine of animals given feed containing little or no protein but adequate levels of all other nutrients. There was no differentiation according to the type of nitrogenous compounds in the urine. The derivation was based on data from 13 publications on cattle and 12 publications on sheep. It should be noted that the information on cattle with a live weight

of over 200 kg must be regarded as particularly unsatisfactory. It was calculated that the level of “endogenous” urinary N excretion, expressed in gram per unit metabolic body size ($BW \text{ kg}^{0.73}$) per day, fell from 0.20 at 50 kg BW to 0.12 above 200 kg BW. A second report (ARC 1980), based on the only slightly amended data set, stated that daily “endogenous” urinary N (y ; [g/d]) could best be described as a function of the common logarithm of the BW [$\log_{10}x$]. The corresponding value for cattle ($y = 5.9206 \log_{10}x - 6.76$) was adopted by the German Committee for Requirement Standards (GEH 1986; GfE 1995, 2001) as “endogenous urinary N” (UN_e). The GfE (2001) stated that urinary urea-N (UUN) and urinary non-urea-N (UNUN) should be differentiated in future.

The working group responsible for the first report (ARC 1965) described faecal N loss of “endogenous origin” as “metabolic faecal excretion of N (MFN)” and stated that MFN was derived either by feeding rations with very low N content or by regression analysis rations differing widely in N content. Regarding the method used to determine endogenous N loss in urine and faeces, the GEH (1986, p. 32) concluded that quantifying these two components [especially faecal N excretion (FNe)] in ruminants is difficult because N-free rations are ingested only over a period of 3 to 4 days.

Based on 15 publications on cattle (including four on calves fed milk replacer) and 10 publications on sheep, the ARC (1965) calculated that MFN was around 5 g/kg dry matter intake (DMI). The German committee (GfE 2001) regarded this figure as excessive based on the following calculation. Provided that an average flow of 20.8 g N/kg DMI is assumed in the proximal duodenum corresponding to 14.6 g AA-N/kg DMI and small intestinal AA-N (apparent) digestibility and absorbability rates of 70% and 85%, respectively, a difference of 2.19 g AA-N/kg DMI was obtained between apparently digested and absorbed AA-N. This was used in the factorial estimation of net nutrient requirements as “endogenous faecal N” (FNe). The FNe was therefore derived purely deductively from assumptions that, in turn, were based only partly on measured variables and partly on assumptions.

In the light of research results presented in more than 30 publications since the release of the most recent brochure of the GfE (2001), it now appears not only justified but also indeed necessary to take heed of previously expressed limitations and to include current experimental research results in the derivation of recommendations concerning N supply in cattle. Contrary to the previous approach (GfE 2001), this derivation does not employ any assumptions for “endogenous losses” (UN_e and FN_e) as their experimental basis is unsatisfactory.

3. Relevance of urea kinetics in ruminants

Table 1 summarises the results of 11 publications reporting on kinetic studies of urea turnover in ruminants. In two of these publications (Nolan and Leng 1972; Nolan et al. 1976), only one ration was fed; the other studies used at least two rations which differed largely in terms of N content or quantity of feed. In each case, increasing dietary N content was accompanied by a rise in the irreversible loss (IRL) of N from the body urea pool as a consequence of increased urinary excretion of urea (see also Cox 2013). If N intake was varied by altering the quantity of feed (Sarraseca et al. 1998), maintaining a constant N content, higher feed intake was accompanied by a greater net degradation in urea. However, varying the N concentration in feed DM carried out in the other

Table 1. Irreversible loss (IRL) of N from body urea pool, excretion of urinary urea-N (UUN) and net degradation of urea in ruminants.

Species/ rations	Sample size* (n)	DM ^o intake [kg/d]	CP [‡] level [% of DM]	N intake			Net degradation			Reference
				Feed N [g/d]	Feed N [g/kg DM]	UUN [g/d]	IRL of N [g/d]	N [g/d]	IRL of N [†] [%]	
Goats										
2	2	n.n. [*] n.n.	n.n. n.n.	n.n. n.n.	n.n. n.n.	5.70 1.30	9.70 3.80	4.00 2.50	41 66	Obara and Shimbayashi (1980)
2	7	1.70 1.70	n.n. n.n.	38.50 26.20	15.50 21.40	7.20 1.60	21.40 13.20	14.20 11.60	66 88	Pfeffer et al. (2009b)
8	4-6	0.63 0.65 0.63 0.59 0.71 0.62 0.60 0.59	17.81 17.76 18.21 12.40 12.53 7.53 8.33 7.67	18.04 18.41 18.30 11.61 14.13 7.45 8.02 7.24	28.50 28.41 29.14 19.85 20.04 12.06 13.32 12.27	7.87 7.41 7.89 2.74 2.50 0.25 0.41 0.17	21.90 28.20 32.80 12.20 34.40 6.00 12.60 11.40	14.03 20.79 24.91 9.46 31.90 5.75 12.19 11.23	64 74 76 78 93 96 97 99	Cox (2013)
Sheep										
	1	0.68 0.68 0.68 0.68 0.68	n.n. n.n. n.n. n.n. n.n.	23.00 25.10 23.00 25.10 22.50	33.82 36.91 33.82 36.91 33.09	13.80 14.00 14.10 12.80 8.20	15.70 19.50 20.00 19.50 15.80	1.90 5.50 5.90 6.70 7.60	12 28 30 34 48	Nolan and Leng (1972)
	1	0.52 0.46 0.59	n.n. n.n. n.n.	15.60 13.70 19.60	29.83 29.85 33.33	10.50 9.50 8.00	13.50 13.50 13.50	3.00 4.00 5.50	22 30 41	Nolan et al. (1976)
	4	n.n. n.n. n.n.	n.n. n.n. n.n.	5.56 [#] 5.87 [#] 3.49 [#]	10.80 [#] 13.10 [#] 8.50 [#]	1.68 [#] 1.10 [#] 0.82 [#]	7.48 [#] 5.29 [#] 4.89 [#]	5.80 [#] 4.19 [#] 4.07 [#]	78 79 83	Norton et al. (1978)
	6	0.86 0.86	15.40 8.70	21.20 12.00	18.20 10.30	5.10 0.90	10.80 4.00	5.70 3.10	53 78	Bunting et al. (1987)
	n.n.	n.n. n.n.	n.n. n.n.	35.30 35.30	28.60 24.60	18.80 16.00	24.60 23.60	5.80 7.60	24 32	Sutoh et al. (1996)
	4	n.n. n.n. n.n.	13.75 13.75 13.75	9.67 19.34 29.05	22.00 22.00 22.00	4.10 4.32 5.80	8.93 10.41 15.37	4.83 6.09 9.57	54 59 62	Sarraseca et al. (1998)
	4	0.87 0.83	5.60 13.40	17.14 14.30	19.70 17.23	5.62 3.42	10.46 7.83	4.84 4.41	46 56	Lobley et al. (2000)
Dairy cattle										
	4	10.80 10.80 10.80 10.80	11.78 10.34 8.54 6.39 5.07	203.50 178.70 147.50 110.40 87.60	33.90 29.80 25.00 19.00 14.60	95.80 70.50 50.40 15.00 3.80	121.50 97.10 72.00 43.10 29.00	25.70 26.60 21.60 28.10 25.20	21 27 30 65 87	Marini and Van Amburgh (2003)
Fruiting cattle										
	4	18.70 18.80	n.n. n.n.	468.00 383.00	20.30 25.00	148.00 64.00	237.00 138.00	89.00 74.00	38 54	Pfeffer et al. (2009b)

tes: *Sample size of each ration; ^oDM, dry matter; [‡]CP, crude protein; [†]relative to N degradation; ^{*}n.n., not named; [#]values based on g N/kg original matter.

studies cited in Table 1 did not show a directed influence on the level of the net degradation in urea.

The conclusion from Table 1 is that the amounts of N irreversibly lost from the body urea pool – partitioned into amounts degraded in the gastrointestinal tract on the one hand and amounts excreted in urine on the other hand – are evidently not constant (see

also Cox 2013) but, according to the experimental data analysed here, can range from 12% to 99%. The proportion of IRL attributable to net degradation exceeds 75% at low N intake levels (Norton et al. 1978; Bunting et al. 1987; Marini and Van Amburgh 2003; Pfeffer et al. 2009b; Cox 2013) but conversely falls to below 25% with surplus N intake (Nolan and Leng 1972; Nolan et al. 1976; Sutoh et al. 1996; Marini and Van Amburgh 2003). It is therefore hypothesised that urea excretion should be regarded primarily as a function of excessive N intake (analogous to Kehraus et al. 2006), whereas the amount of net degradation of such excesses is not directly influenced (see also Cox 2013).

If urinary excretion of urea (UUN) ensures N homeostasis in the body over a wide range, it is logical that other forms of N excretion should be regarded not as a function of N intake but as obligatory. It was therefore necessary to establish whether there are determinants of this obligatory N excretion in faeces and as UNUN.

4. Faecal N excretion and urinary non-urea-N

Table 2 illustrates the results of faecal N excretion related to DMI collated from 49 publications. The N content of these experimental rations was between 10.3 and 40.9 g/kg DM, and the related faecal N excretion was between 4.0 and 13.9 g/kg DMI. This ratio between faecal N and DMI exceeded 11 g/kg in only 7% of the cases; it was below 11 g/kg DMI in 93% of the rations analysed.

Table 3 summarises those studies which differentiated between UUN and UNUN. Due to lack of information, it is not possible to differentiate further here – for example, by purine derivatives, creatinine and hippuric acid (Kehraus et al. 2006) – with the result that non-urea-N is treated as a total quantity.

The N content of the feed DM was between 10.3 and 34.2 g/kg. The proportion of N contained in compounds other than urea in relation to total urinary N was between 6% and 89%. Comparing UNUN with feed DMI, only the results of the studies by Lobley et al. (2000), Haig et al. (2002) and Gozho and Mutsvangwa (2008) come out above 6.4 g/kg. In the other rations, this ratio exceeded 4.0 g/kg in only four cases (where the figure was either 4.1 or 4.2 g). In all other cases, the figure of 4 g N/kg feed DM was not exceeded.

In summary, only urinary urea excretion can be regarded as regulatory excretion depending on the level of excessive N intake. Faecal N excretion is regarded as obligatory excretion (analogous to Cox 2013) which, considering the rations analysed, rarely exceeded 11 g/kg feed DM (Table 2). Urinary N excretion in compounds other than urea is also regarded as obligatory and is below 4 g/kg DMI in almost 85% of the cases analysed (Table 3).

5. Supposed minimum excretion of urea

Although urinary excretion of urea is regarded here as decisive in regulating N homeostasis, it is not assumed that this factor can be reduced to “zero” in the long term without impairing animal performance and health. As a consequence, a minimum required urinary excretion of urea must be taken into account in the following derivation. This factor is certainly reminiscent of Folin’s N minimum (1905) cited above, but is restricted to urea-N and is not interpreted as a consequence of changes in the

Table 2. N excretion in ruminants related to dry matter intake.

Species/rations	Sample size* (n)	DM [†] intake [kg/d]	Crude protein level [% DM]	Feed N		Faecal N		Reference
				[g/d]	[g/kg DM]	[g/d]	[g/kg DM]	
Goats								
4	10	1.8	13.6-17.7	31.0-43.9	17.2-24.4	8.9-11.7	4.9-6.6	De La Torre et al. (2008)
3	6	1.3-1.4	15.9-17.1	34.3-37.9	25.7-27.6	9.9-11.9	7.4-8.7	Molina-Alcaide et al. (2010)
8	4-6	0.6-0.7	7.5-18.2	7.2-18.4	12.1-29.1	2.6-5.3	4.2-8.5	Cox (2013)
Sheep								
6	4	0.7	20.7-23.1	22.5-25.1	33.1-36.9	4.7	8.5	Nolan and Leng (1972)
8	2-12	0.8-1.2	13.0-13.4	14.4-25.8	19.2-22.3	6.0-8.9	5.6-9.2	Prior (1976)
3	3	0.5-0.6	18.6-20.8	13.7-19.6	29.8-33.3	4.1-6.5	8.9-11.3	Nolan et al. (1976)
2	6	0.9	8.7-15.4	12.0-21.2	10.3-18.2	5.3-6.1	6.2-7.1	Bunting et al. (1987)
2	5	0.9	11.9	16.8-16.9	19.0	6.1-6.6	6.9-7.5	Van der Veen et al. (1989)
2	4	0.8-0.9	5.6-13.4	14.3-17.1	17.2-19.7	5.6-6.8	6.5-8.2	Lobley et al. (2000)
4	4	1.7-2.2	10.3-15.6	27.4-45.3	16.3-25.0	8.7-10.9	4.0-6.5	Kiran and Mutsavangwa (2009)
Growing cattle								
2	6	6.8	12.7	144.5-147.2	21.3-21.6	55.9-56.9	8.2-8.4	Eisemann et al. (1989)
6	4	4.7-4.8	13.5-17.2	104.8-118.2	22.3-25.0	27.3-30.6	5.8-6.5	Wessels and Titgemeyer (1997)
5	4	10.8	5.1-11.8	87.6-203.5	14.6-33.9	46.3-52.0	4.3-4.8	Marini and Van Amburgh (2003)
5	4	5.9-6.0	5.1-11.8	87.6-203.5	14.7-34.2	46.3-52.0	7.8-8.7	Marini and Van Amburgh (2005)
n.n.*	7-36	3.2-10.9	10.8-21.7	73.0-316.0	24.6	23.0-105.0	7.8	Yan et al. (2007)
8	4	4.0-4.7	7.6-13.0	48.0-98.0	12.2-20.8	23.8-32.7	5.4-6.9	Pfeffer et al. (2009a)
2	8	3.9-4.0	13.9-14.0	91.8-92.7	23.0-23.8	21.1-23.0	5.3-5.9	Lascano et al. (2012)
Dairy cattle								
9	2-3	7.2-13.2	10.8-20.5	173.0-328.0	14.2-32.0	51.0-93.0	6.4-8.1	Mugerwa and Conrad (1971)
4	4	11.8-13.9	15.7-17.4	330.0-350.0	25.1-27.9	126.0-149.0	10.4-12.3	Röhmoser and Kirchgößner (1982)
6	4	13.0-13.3	12.0-14.5	254.0-308.0	19.2-23.3	131.0-138.0	10.1-10.4	Röhmoser et al. (1984)
9	6	13.7-15.0	11.6-17.2	252.8-410.1	16.8-27.5	131.3-154.8	9.5-10.4	Kreuzer and Kirchgößner (1985a, 1985b)
8	2	13.9-16.5	12.4-14.6	309.7-352.6	19.9-23.4	123.6-148.2	8.7-9.1	Kaufmann and Kirchgößner (1987a, 1987b)
2	4	14.2-14.5	9.4-12.7	213.9-295.4	15.1-20.3	107.0-109.0	7.5	Susmel et al. (1995)
3	5-6	19.5-19.9	14.5-16.8	419.0-486.0	21.1-24.4	152.0-159.0	7.6-8.2	Lebzien et al. (1995)
3	7-15	10.5-11.1	10.6-14.5	187.5-258.9	17.1-23.3	81.3-91.8	7.7-8.3	Putnam and Varga (1998)
17	4	15.4-17.8	14.0-28.5	345.0-528.0	22.4-30.5	132.0-173.0	8.0-9.8	Kebreab et al. (2000)
3	6	16.0-16.2	13.9-16.3	341.0-369.0	21.3-22.8	112.2-136.4	7.0-8.5	Castillo et al. (2001)
4	8-10	20.6-23.5	15.9-16.3	542.1-626.5	28.3-38.9	178.4-214.9	8.5-9.6	Knowlton et al. (2001)
3	6	20.0-22.2	17.6-17.8	571.2-629.4	28.4	186.9-233.7	9.4-10.6	Haig et al. (2002)
3	8	23.1-23.6	16.4-18.1	614.8-687.9	26.6-29.2	197.3-231.2	8.5-9.8	Galo et al. (2003)
6	6	24.1-25.6	16.9-18.6	679.0-770.0	27.7-30.1	257.0-279.0	10.5-11.1	Noftsker and St-Pierre (2003)
4	6	21.4-24.8	17.5-18.1	604.0-699.0	28.2-29.1	175.0-212.0	8.0-9.0	Ruppert et al. (2003)

(Continued)

Table 2. (Continued).

Species/ratios	Sample size* (n)	DM [†] intake [kg/d]	Crude protein level [% DM]	Feed N		Faecal N		Reference
				[g/d]	[g/kg DM]	[g/d]	[g/kg DM]	
6	6	13.8–16.0	11.1–25.1	272.0–564.0	17.6–40.9	97.0–143.0	6.8–10.4	Wright et al. (2003)
5	12	16.2–19.8	16.4–20.4	482.0–632.0	26.2–32.7	132.0–193.0	8.1–9.7	Mulligan et al. (2004)
4	12	22.2–25.3	16.4–18.0	616.0–729.0	26.2–28.8	150.0–220.0	6.8–8.7	Wattiaux and Karg (2004)
4	4	21.1–24.4	17.0–18.7	596.0–712.0	27.2–30.2	190.0–232.0	8.8–9.5	Fils and Wattiaux (2005)
6	6	22.2–25.0	16.1–17.3	615.0–665.0	25.7–27.7	209.0–325.0	9.4–13.4	Gressley and Armentano (2005)
16	4	22.6–30.2	15.0–18.8	610.0–827.0	23.3–31.8	224.0–386.0	8.7–13.9	Groff and Wu (2005)
5	5	22.2–23.0	13.5–19.9	531.0–711.0	21.7–31.0	176.0–210.0	7.9–9.2	Olmos Colmenero and Broderick (2006)
4	9–10	17.5–20.8	15.7–18.4	434.0–661.0	24.8–31.8	181.0–212.0	8.7–11.9	Petit et al. (2005)
4	7	22.4–24.4	17.2–18.8	619.0–715.0	24.4–28.5	197.0–222.0	8.8–9.4	Reynal and Broderick (2005)
4	28	23.7–26.8	16.2–17.2	617.0–744.0	26.0–27.8	211.0–275.0	8.9–10.3	Brito and Broderick (2006)
3	6	20.4–21.0	16.4–17.8	535.0–581.0	26.2–28.5	204.0–219.0	9.9–10.7	Foley et al. (2006)
4	4	24.0–26.2	17.3–17.6	669.0–727.0	27.2–27.9	207.0–266.0	8.2–10.5	Gozho and Mutsvangwa (2008)
4	4	20.5–23.8	17.0–17.4	539.5–653.2	26.3–27.9	116.2–196.9	5.7–8.3	Gozho et al. (2008)
2	4	18.7–18.8	12.7–15.6	383.0–468.0	20.4–25.0	144.0–149.0	7.7–7.9	Pfeffer et al. (2009b)
2	8	15.8–22.4	17.7	447.0–631.0	28.2–28.3	162.0–243.0	10.3–10.9	Knowlton et al. (2001)
9	4	14.9–19.1	13.0–23.1	359.0–626.0	21.0–37.1	139.0–193.0	7.8–10.7	Chen et al. (2011)
4	4	19.9–20.4	11.0–14.4	352.0–471.0	17.3–22.2	149.0–168.0	7.5–8.2	Fanchone et al. (2012)

Notes: *Sample size of each ration; [†]DM, dry matter; n.n., not named.

Table 3. N excretion as urinary urea-N (UUN) and other urinary N compounds in ruminants related to the feed-N content.

Species/ rations	Sample size* (n)	DM [†] intake [kg/d]	Feed N				UUN:UUN			Reference	
			CP [‡] [% DM]	[g/d]	[g/kg DM]	UUN [§] [g/d]	UUN [§] [g/kg DM]	UUN [g/d]	Ratio		
Goats	4	1.7	n.n. [#]	26.2	21.4	1.6	2.0	3.4	32: 68	0.47	Pfeffer et al. (2009b)
		1.8	n.n.	38.5	15.5	7.2	1.9	3.5	67: 33	2.03	
	8	0.6	7.7	7.2	12.3	0.2	2.0	1.2	12: 88	0.14	Cox (2013)
		0.6	7.5	7.5	12.1	0.3	2.3	1.4	15: 85	0.18	
		0.6	8.3	8.0	13.3	0.4	2.0	1.2	25: 75	0.33	
		0.7	12.5	14.1	20.0	2.5	2.8	2.0	56: 44	1.27	
		0.6	12.4	11.6	19.9	2.7	2.7	1.6	63: 37	1.70	
		0.7	17.8	18.4	28.4	7.4	3.9	2.5	75: 25	3.00	
Sheep	6	0.6	17.8	18.0	28.5	7.9	3.6	2.3	77: 23	3.35	
		0.6	18.2	18.3	29.1	7.9	2.9	1.8	81: 19	4.26	
	2	0.9	8.7	12.0	10.3	0.9	0.8	0.9	50: 50	1.00	Bunting et al. (1987)
		0.9	15.4	21.2	18.2	5.1	1.3	1.1	50: 50	1.00	
	2	0.9	11.9	16.9	19.0	3.6	2.9	2.6	58: 42	1.38	Van der Veen et al. (1989)
		0.9	11.9	16.8	19.0	4.5	2.5	2.2	67: 33	2.03	
	2	0.8	13.4	14.3	17.2	3.4	4.1	2.8	55: 45	1.22	Lobley et al. (2000)
		0.9	5.6	17.1	19.7	5.6	6.5	2.9	66: 34	1.94	
4	2.2	10.3	36.6	16.3	10.5	4.2	9.4	53: 47	1.13	Kiran and Mutsvangwa (2009)	
	1.7	10.3	27.4	16.6	6.2	2.9	4.7	57: 43	1.33		
Growing cattle	5	1.7	15.6	41.8	24.9	14.0	3.3	5.6	71: 29	2.45	
		1.8	15.6	45.3	25.0	20.8	3.2	5.8	78: 12	6.50	
	4	10.8	5.1	87.6	14.6	3.8	1.7	17.9	18: 82	0.22	Marini and Van Amburgh (2003)
		10.8	6.4	110.4	19.0	15.0	2.0	21.1	42: 48	0.88	
	5	10.8	8.5	147.5	25.0	50.4	1.7	18.3	73: 27	2.70	
		10.8	10.3	178.7	29.8	70.5	2.2	23.8	75: 25	3.00	
	5	10.8	11.8	203.5	33.9	95.8	2.3	25.0	79: 21	3.76	
		6.0	5.1	87.6	14.7	5.2	2.8	16.4	24: 76	0.32	Marini and Van Amburgh (2005)
8	5.9	6.4	110.4	18.5	15.0	3.5	21.0	33: 67	0.49		
	5.9	8.5	147.5	24.8	50.4	3.1	18.3	73: 27	2.70		
8	6.0	10.3	178.7	30.0	70.5	4.0	23.8	75: 25	3.00		
	5.9	11.8	203.5	34.2	95.8	4.2	25.0	79: 21	3.76		
4	4.0	7.6	48.0	12.2	1.5	3.1	12.1	11: 89	0.12	Pfeffer et al. (2009a)	
	4.7	7.6	57.3	12.2	2.9	3.0	13.9	17: 83	0.20		

(Continued)

Table 3. (Continued).

Species/ rations	Sample size* (n)	DM [†] intake [kg/d]	Feed N			UNUN [§] [g/d]	UNUN [§] [g/kg DM]	UNUN [g/d]	UUN:UNUN		Reference
			CP [‡] [% DM]	[g/d]	[g/kg DM]				[%]	Ratio	
Dairy cattle	4	4.0	9.4	59.4	15.0	5.6	3.5	13.8	29:71	0.41	
		4.7	9.4	70.8	15.0	6.4	3.1	14.7	30:70	0.43	
		4.0	11.2	70.8	17.9	9.9	3.5	13.9	42:48	0.88	
		4.7	11.2	84.4	17.9	14.1	3.4	15.9	47:53	0.89	
	4.0	13.0	82.2	20.8	14.4	3.6	14.1	50:50	1.00		
	4.7	13.0	98.0	20.8	17.4	3.1	14.8	54:46	1.17		
	4	14.2	9.1	214.0	15.0	4.7	2.1	29.3	14:86	0.16	Susmel et al. (1995)
	4	14.5	16.1	295.0	20.3	44.1	1.9	27.9	62:38	1.63	
	6	22.2	17.7	629.4	28.4	172.9	7.8	66.9	72:28	2.57	Haig et al. (2002)
		20.8	17.6	587.8	28.4	134.6	6.4	45.2	75:25	3.00	
	12	20.0	17.8	571.2	28.4	174.9	8.7	52.2	77:23	3.35	Wattiaux and Karg (2004)
		24.8	16.5	656.0	26.5	169.0	1.7	42.0	80:20	4.00	
		23.7	16.4	620.0	26.2	172.0	1.4	34.0	84:16	5.25	
		25.3	18.0	729.0	28.8	212.0	1.5	39.0	84:16	5.25	
		22.2	17.3	616.0	27.8	208.0	1.8	39.0	84:16	5.25	
	5	22.3	13.5	483.0	21.7	63.0	2.2	50.0	56:44	1.27	Olmos Colmenero and Broderick (2006)
		22.2	15.0	531.0	23.9	91.0	2.2	49.0	65:35	1.86	
		23.0	16.5	605.0	26.3	128.0	2.3	52.0	71:29	2.45	
		22.9	19.4	711.0	31.0	208.0	2.1	49.0	81:19	4.26	
		22.3	19.9	641.0	28.7	174.0	1.8	39.0	82:18	4.56	
	4	22.4	17.2	619.0	28.5	163.0	3.4	76.0	68:32	2.13	Reynal and Broderick (2005)
		23.7	18.3	701.0	26.8	216.0	3.3	77.0	74:26	2.85	
		23.6	18.8	715.0	24.4	240.0	2.3	55.0	81:19	4.26	
		24.4	17.7	690.0	27.2	195.0	1.7	42.0	83:17	4.88	
	4	25.4	16.6	675.0	27.1	158.0	2.3	43.0	78:22	3.55	Brito and Broderick (2006)
		26.5	16.9	719.0	26.6	165.0	1.7	50.0	79:21	3.76	
		26.8	17.2	744.0	26.0	183.0	1.3	34.0	84:16	5.25	
		23.7	16.2	617.0	27.8	157.0	1.3	31.0	84:16	5.25	
	4	26.2	17.6	727.0	27.8	219.0	8.4	48.0	82:18	4.56	Gozho and Mutsvangwa (2008)
		24.0	17.4	669.0	27.9	210.0	8.8	45.0	82:18	4.56	
		25.2	17.3	686.0	27.2	238.0	9.4	27.0	90:10	9.00	
		26.0	17.5	723.0	27.8	223.0	8.6	13.0	94:6	15.67	Pfeffer et al. (2009b)
	2	18.8	n.n.	383.0	25.0	64.0	2.2	39.0	62:38	1.63	
		18.7	n.n.	468.0	20.3	148.0	2.3	43.0	77:23	3.35	

Notes: *Sample size of each ration; [†]DM, dry matter; [‡]CP, crude protein; [§]UUN, urinary urea-N; [¶]UNUN, urinary non-urea-N; ^{||}n.n., not named.

structure of body proteins. It merely reflects the fact that 100% biological efficiency cannot be assumed for individual mechanisms.

The literature contains limited references to necessary N excretion in the urine of ruminants. Table 3 shows that the proportion of UUN in relation to total urinary N can be below 20%, which is why our calculations use 20% as the proportion of urea in total urinary N. Assuming that urinary excretion of non-urea-N is 4 g/kg feed DM, the necessary urea excretion per kilogram of feed DM is 1 g N.

To derive a target for N supply in cattle, we therefore assume obligatory N excretion of 11 g in faeces + 4 g in urinary non-urea + 1 g in urinary urea = 16 g N/kg of DMI. These assumptions regarding obligatory N losses must be compensated by an appropriate supply in feed in order to avoid a negative N balance in the animals.

6. Derived recommendations for N supply

A recommendation for an adequate supply of N is given below under the proviso that an adequate supply of uCP must be provided. Table 1.4.3 of the recommendations for the supply of energy and nutrients to dairy cows (GfE 2001, p. 24) shows the DMI required at different net energy for lactation (NEL) levels in order to meet the NEL requirement for various milk yields. In the previous section, we calculated that the obligatory excretion is assumed to be 16 g N/kg feed DM, so it is appropriate to include this figure in the derived recommendations for N supply. The N supply regarded as necessary for dairy cows is, therefore, the total of the obligatory losses (16 g N/kg of DMI) and the amount of N in the milk (5.5 g/kg) and in pregnancy-related retentions. Table 4 shows the resulting figures for dairy cows in accordance with Table 1.4.3 of the GfE (2001) recommendations. Table 5 lists the resulting concentrations of crude protein in the ration ($N \cdot 6.25$).

7. Conclusions

Considering the environmental necessity of reducing N excretion by ruminants, making optimum use of the ruminohepatic cycle is the key. However, its efficiency depends on the minimal N-content of feed. The minimum N intake levels required to achieve a

Table 4. Requirements of total N intake (per day and per kilogram DMI[†]) in dairy cattle to reach a stable N-balance on the assumption of a sufficient energy intake and a body weight of 650 kg.

Milk yield [kg/d]	Concentration of NEL [#] in the ration [MJ/kg DM]													
	5.2		5.6		6.0		6.4		6.8		7.2		7.6	
	[g/d]	[g/kg DMI]	[g/d]	[g/kg DMI]	[g/d]	[g/kg DMI]	[g/d]	[g/kg DMI]	[g/d]	[g/kg DMI]	[g/d]	[g/kg DMI]	[g/d]	[g/kg DMI]
10	273	20.1	257	20.4	244	20.7	231	21.0						
15			332	21.3	315	21.7	300	22.1	287	22.4				
20			406	21.9	387	2.4	369	22.8	353	23.2	340	23.6		
25					458	22.9	430	22.9	421	23.8	405	24.3	390	24.7
30					530	23.2	507	23.7	487	24.2	469	24.7	453	25.2
35							575	24.1	553	24.6	533	25.0	516	25.5
40							644	24.3	620	24.8	598	25.3	577	25.9
45									682	24.9	662	25.6	640	26.1
50									752	25.2	726	25.7	702	26.3

Notes: [†]DMI, dry matter intake; [#]NEL, net energy for lactation.

Table 5. Requirements of crude protein [g/kg DM] for a stable N balance in dairy cattle.

Milk yield [kg/d]	Concentration of NEL [#] in the ration [MJ/kg DM]						
	5.2	5.6	6.0	6.4	6.8	7.2	7.6
10	125	127	129	131			
15		133	136	138	140		
20		137	140	142	145	148	
25			143	146	148	151	154
30			145	148	151	154	157
35				150	153	156	160
40				152	155	158	162
45					156	160	163
50					158	161	164

Note: [#]NEL, net energy for lactation.

good N balance were presented on the basis of an updated and expanded data set. The derived recommendation for an N or crude protein supply for dairy cows is below the level commonly used in current practice. It is also vital to provide an adequate supply of usable crude protein.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

- [ARC] Agricultural Research Council. 1965. The nutrient requirements of farm livestock. No. 2. Ruminants. London: HMSO.
- [ARC] Agricultural Research Council. 1980. The nutrient requirements of ruminant livestock. Slough: CAB.
- Brito AF, Broderick GA. 2006. Effect of varying dietary ratios of alfalfa silage to corn silage on production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 89:3924–3938.
- Bunting LD, Boling JA, MacKown CT, Muntifering RB. 1987. Effect of dietary protein level on nitrogen metabolism in lambs: studies using ¹⁵N-nitrogen. *J Anim Sci.* 64:855–867.
- Castillo AR, Kebreab E, Beever DE, Barbi JH, Sutton JD, Kirby HC, France J. 2001. The effect of energy supplementation on nitrogen utilization in lactating cows fed grass silage diets. *J Anim Sci.* 79:240–246.
- Chen ZH, Broderick GA, Luchini ND, Sloan BK, Devillard E. 2011. Effect of feeding different sources of rumen-protected methionine on milk production and N-utilization in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 94:1978–1988.
- Coenen M. 1996. Protein- und Aminosäurenversorgung der Milchkuh. *Übers Tierernährg.* 24:41–51.
- Cox C. 2013. Experimentelle Untersuchungen zur Kinetik des Stickstoff-Umsatzes bei wachsenden Ziegenlämmern unter Verwendung des stabilen Isotops ¹⁵N [Diss., Universität Gießen]. Gießen: VVB Laufersweiler.
- De La Torre G, Serradilla JM, Gil Extremera F, Sanz Sampelayo MR. 2008. Nutritional utilization in Malaguena dairy goats differing in genotypes for the content of alphaS1-casein in milk. *J Dairy Sci.* 91:2443–2448.
- Eisemann JH, Hammond AC, Rumsey TS, Bauman DE. 1989. Nitrogen and protein metabolism and metabolites in plasma and urine of beef steers treated with somatotropin. *J Anim Sci.* 67:105–115.

- Fanchone A, Noziere P, Portelli J, Duriot B, Largeau V, Doreau M. 2012. Effects of nitrogen underfeeding and energy source on nitrogen ruminal metabolism, digestion, and nitrogen partitioning in dairy cows. *J Anim Sci.* 91:895–906.
- Flis SA, Wattiaux MA. 2005. Effects of parity and supply of rumen-degraded and undegraded protein on production and nitrogen balance in Holsteins. *J Dairy Sci.* 88:2096–2106.
- Foley AE, Hristov AN, Melgar A, Ropp JK, Etter RP, Zaman S, Hunt CW, Huber K, Price WJ. 2006. Effect of barley and its amylopectin content on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 89:4321–4335.
- Folin O. 1905. A theory of protein metabolism. *Am J Physiol.* 13:117–138.
- Galo E, Emanuele SM, Sniffen CJ, White JH, Knapp JR. 2003. Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci.* 86:2154–2162.
- [GEH] Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere. 1986. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere, Nr. 3. Milchkühe und Aufzuchtrinder. Frankfurt am Main: DLG-Verlag.
- [GfE] Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. 1995. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere, Nr.6. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Mastrinder. Frankfurt am Main: DLG-Verlag.
- [GfE] Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. 2001. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere, Nr.8. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. Frankfurt am Main: DLG-Verlag.
- Gozho GN, Hobin MR, Mutsvangwa T. 2008. Interactions between barley grain processing and source of supplemental dietary fat on nitrogen metabolism and urea-nitrogen recycling in dairy cows. *J Dairy Sci.* 91:247–259.
- Gozho GN, Mutsvangwa T. 2008. Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance, and microbial protein synthesis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 91:2726–2735.
- Gressley TF, Armentano LE. 2005. Effect of abomasal pectin infusion on digestion and nitrogen balance in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 88:4028–4044.
- Groff EB, Wu Z. 2005. Milk production and nitrogen excretion of dairy cows fed different amounts of protein and varying proportions of alfalfa and corn silage. *J Dairy Sci.* 88:3619–3632.
- Haig PA, Mutsvangwa T, Spratt R, McBride BW. 2002. Effects of dietary protein solubility on nitrogen losses from lactating dairy cows and comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. *J Dairy Sci.* 85:1208–1217.
- Kaufmann TEG, Kirchgeßner M. 1987a. Futteraufnahme und Nährstoffverdaulichkeit bei der Milchkühe während und nach energetischer Überversorgung. 1. Zum Einfluß überhöhter Energiezufuhr bei laktierenden Kühen und dadurch bedingte Folgewirkungen. *Z Tierphysiol Tierernährg Futtermittelkde.* 57:237–251.
- Kaufmann TEG, Kirchgeßner M. 1987b. Stickstoffbilanz und Stickstoffverwertung bei der Milchkühe während und nach energetischer Überversorgung. 2. Zum Einfluß überhöhter Energiezufuhr bei laktierenden Kühen und dadurch bedingte Folgewirkungen. *Z Tierphysiol Tierernährg Futtermittelkde.* 57:251–261.
- Kebreab E, Castillo AR, Beever DE, Humphries DJ, France J. 2000. Effects of management practices prior to and during ensiling and concentrate type on nitrogen utilization in dairy cows. *J Dairy Sci.* 83:1274–1285.
- Kehraus S, Südekum K-H, Pfeffer E. 2006. Einflussfaktoren auf die Ausscheidung N-haltiger Verbindungen im Harn von Wiederkäuern. *Übers Tierernährg.* 34:125–164.
- Kiran D, Mutsvangwa T. 2009. Effects of partial ruminal defaunation on urea-nitrogen recycling, nitrogen metabolism, and microbial nitrogen supply in growing lambs fed low or high dietary crude protein concentrations. *J Anim Sci.* 88:1034–1047.
- Knowlton KF, Herbein JH, Meister-Weißbarth MA, Wark WA. 2001. Nitrogen and phosphorus partitioning in lactating Holstein cows fed different sources of dietary protein and phosphorus. *J Dairy Sci.* 84:1210–1217.

- Kreuzer M, Kirchgeßner M. 1985a. Nährstoffaufnahme und -verdaulichkeit bei der Milchkuh während und nach überhöhter Eiweißzufuhr. 1. Zum Einfluß von Proteinfehlernährung bei laktierenden Kühen und daraus entstehenden Nachwirkungen. *Z Tierphysiol Tierernährg Futtermittelkde.* 53:170–185.
- Kreuzer M, Kirchgeßner M. 1985b. N-Ansatz und N-Verwertung bei Kühen während und nach überhöhter Proteinversorgung. 2. Zum Einfluß von Proteinfehlernährung bei laktierenden Kühen und daraus entstehenden Nachwirkungen. *Z Tierphysiol Tierernährg Futtermittelkde.* 53:270–279.
- Lascano GJ, Velez M, Tricarico JM, Heinrichs AJ. 2012. Short communication: nutrient utilization of fresh sugarcane-based diets with slow-release nonprotein nitrogen addition for control-fed dairy heifers. *J Dairy Sci.* 95:370–376.
- Lebzien P, Daenicke R, Gädeken D. 1995. Versuche zum Einsatz eines pansenstabilen Sojaschrotes bei laktierenden Kühen. *Landbauforsch Völkenrode.* 45:4–11.
- Lebzien P, Voigt J. 1999. Calculation of utilisable crude protein at the duodenum of cattle by two different approaches. *Arch Anim Nutr.* 52:363–369.
- Lindberg JE, Jacobsen KG. 1990. Nitrogen and purine metabolism at varying energy and protein supplies in sheep sustained on intragastric infusion. *Br J Nutr.* 24:843–855.
- Lobley GE, Bremner DM, Zuur G. 2000. Effects of diet quality on urea fates in sheep as assessed by refined, non-invasive [^{15}N] ^{15}N urea kinetics. *Br J Nutr.* 84:459–468.
- Marini JC, Van Amburgh ME. 2003. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. *J Anim Sci.* 81:545–552.
- Marini JC, Van Amburgh ME. 2005. Partition of nitrogen excretion in urine and the feces of Holstein replacement heifers. *J Dairy Sci.* 88:1778–1784.
- Mitchell HH. 1955. The validity of Folin's concept of dichotomy in protein metabolism. *J Nutr.* 55:193–207.
- Mitchell HH. 1962. Comparative nutrition of man and domestic animals. Vol. I. New York: Academic Press.
- Molina-Alcaide E, Morales-Garcia EY, Martin-Garcia AI, Ben Salem H, Nefzaoui A, Snaz-Sampelayo MR. 2010. Effects of partial replacement of concentrate with feed blocks on nutrient utilization, microbial N-flow, and milk yield and composition in goats. *J Dairy Sci.* 93:2076–2087.
- Mugerwa JS, Conrad HR. 1971. Relationship of dietary nonprotein nitrogen to urea kinetics in dairy cows. *J Nutr.* 101:1331–1342.
- Mulligan FJ, Dillon P, Callan JJ, Rath M, O'Mara FP. 2004. Supplementary concentrate type affects nitrogen excretion of grazing dairy cows. *J Dairy Sci.* 87:3451–3460.
- Noftsker S, St-Pierre NR. 2003. Supplementation of methionine and selection of highly digestible rumen undegradable protein to improve nitrogen efficiency for milk production. *J Dairy Sci.* 86:958–969.
- Nolan JV, Leng RA. 1972. Dynamic aspects of ammonia and urea metabolism in sheep. *Br J Nutr.* 27:177–194.
- Nolan JV, Norton BW, Leng RA. 1976. Further studies of the dynamics of nitrogen metabolism in sheep. *Br J Nutr.* 35:127–147.
- Norton BW, Murray RM, Entwistle KW, Nolan JV, Ball FM, Leng RA. 1978. The nitrogen metabolism of sheep consuming Flinders grass (*Iseilema* spp.), Mitchell grass (*Astrebala* spp.) and mixed native pasture. *Aust J Agric Res.* 29:595–603.
- Obara Y, Shimbayashi K. 1980. The appearance of re-cycled urea in the digestive tract of goats during the final third of a once daily feeding of a low-protein ration. *Br J Nutr.* 44:295–305.
- Olmos Colmenero JJ, Broderick GA. 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 89:1704–1712.
- Petit HV, Ivan M, Mir PS. 2005. Effects of flaxseed on protein requirements and N excretion of dairy cows fed diets with two protein concentrations. *J Dairy Sci.* 88:1755–1764.
- Pfeffer E, Holthausen A, Griese H, Hovenjürgen M, Kehraus S, Boeser U, Loeff M. 2009a. Untersuchungen an Mastfärsen über Stickstoff-Ausscheidungen bei Fütterung von

- Mischrationen mit unterschiedlichen Gehalten an Rohprotein. *Züchtungskunde*. 82:144–154.
- Pfeffer E, Speckter H, Bornemann S, Holthausen A, Rodehutsord M. 2009b. Kinetics of endogenous urea in lactating goats and cows fed diets varying in their crude protein concentrations. *Arch Anim Nutr*. 63:230–242.
- Prior RL. 1976. Effects of dietary soy or urea nitrogen and feeding frequency on nitrogen metabolism, glucose metabolism and urinary metabolite excretion in sheep. *J Anim Sci*. 42:160–167.
- Putnam DE, Varga GA. 1998. Protein density and its influence on metabolite concentration and nitrogen retention by Holstein cows in late gestation. *J Dairy Sci*. 81:1608–1618.
- Reynal SM, Broderick GA. 2005. Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*. 88:4045–4064.
- Röhrmoser G, Kirchgeßner M. 1982. Nährstoffverdaulichkeit und Stickstoffverwertung laktierender Kühe bei energetischer Restriktion und anschließender Realimentation. *Wirtschaftseig Futter*. 28:133–146.
- Röhrmoser G, Kirchgeßner M, Müller HL. 1984. Nährstoffverdaulichkeit und Stickstoffverwertung laktierender Kühe bei Unterversorgung an protein und anschließender Realimentation. *Arch Anim Nutr*. 34:519–530.
- Ruppert LD, Drackley JK, Bremmer DR, Clark JH. 2003. Effects of tallow in diets based on corn silage or alfalfa silage on digestion and nutrient use by lactating dairy cows. *J Dairy Sci*. 86:593–609.
- Sarraseca A, Milne E, Metcalf MJ, Lobley GE. 1998. Urea recycling in sheep: effects of intake. *Br J Nutr*. 79:79–88.
- Schuba J, Südekum K-H. 2013. Pansengeschützte Aminosäuren in der Milchkuhfütterung unter besonderer Berücksichtigung von Methionin und Lysin. *Übers Tierernährg*. 40:113–149.
- Spiekens H, Pfeffer E. 1991. Umweltschonende Ernährung von Schwein und Rind mit Stickstoff und Phosphor. *Übers Tierernährg*. 19:201–246.
- Susmel PS, Spanghero M, Stefanon B, Mills CR. 1995. Nitrogen balance and partitioning of some nitrogen catabolites in milk and urine of lactating cows. *Livest Prod Sci*. 44:207–219.
- Sutoh M, Obara Y, Miyamoto S. 1996. The effect of sucrose supplementation on kinetics of nitrogen, ruminal propionate and plasma glucose in sheep. *J Agric Sci*. 126:99–105.
- Van der Veen JW, Boling JA, Bunting LD. 1989. Alteration of nitrogen metabolism by alpha-ketoglutarate administration in growing lambs fed high nonprotein nitrogen-containing diets. *J Anim Sci*. 67:2386–2392.
- Walker ND, Newbold CJ, Wallace RJ. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. In: Pfeffer E, Hristov A, editors. *Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle. Reducing the environmental impact of cattle operations*. Wallingford (UK): CAB International; p. 71–115.
- Wattiaux MA, Karg KL. 2004. Protein level for alfalfa and corn silage-based diets: II. Nitrogen balance and manure characteristics. *J Dairy Sci*. 87:3492–3502.
- Wessels RH, Titgemeyer EC. 1997. Protein requirements of growing steers limit-fed corn-based diets. *J Anim Sci*. 75:3278–3286.
- Wright TC, Holub BJ, Hill AR, McBride BW. 2003. Effect of combinations of fish meal and feather meal on milk fatty acid content and nitrogen utilization in dairy cows. *J Dairy Sci*. 86:861–869.
- Yan T, Frost JP, Keady TWJ, Agnew RE, Mayne CS. 2007. Prediction of nitrogen excretion in feces and urine of beef cattle offered diets containing grass silage. *J Anim Sci*. 85:1982–1989.
- Yang WR, Sun H, Wang QY, Liu FX, Yang ZB. 2010. Effects of rumen-protected methionine on dairy performance and amino acid metabolism in lactating cows. *Am J Anim Vet Sci*. 5:1–7.

CHAPTER 5

Excretion of faecal, urinary urea and urinary non-urea nitrogen by four ruminant species as influenced by dietary nitrogen intake: a meta-analysis

J. Schuba^a, K.-H. Südekum^{b,*}, E. Pfeffer^b, A. Jayanegara^c

^aInstitute of Agricultural and Nutritional Science, University of Halle-Wittenberg

^bInstitute of Animal Science, University of Bonn

^cDepartment of Nutrition and Feed Technology, Bogor Agricultural University, Indonesia

*e-mail: ksue@itw.uni-bonn.de

Published in *Livestock Science* (2017) 198: 82 – 88.

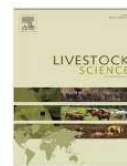
<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.01.017>

Reprinted with permission.



Contents lists available at ScienceDirect

Livestock Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/livsci

Excretion of faecal, urinary urea and urinary non-urea nitrogen by four ruminant species as influenced by dietary nitrogen intake: A meta-analysis



J. Schuba^a, K.-H. Südekum^{b,*}, E. Pfeffer^{b,1}, A. Jayanegara^c

^a Institute of Agricultural and Nutritional Science, University of Halle-Wittenberg, Theodor-Lieser-Str. 11, 06120, Halle, Germany

^b Institute of Animal Science, University of Bonn, Endenicher Allee 15, 53115, Bonn, Germany

^c Department of Nutrition and Feed Technology, Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, 16680, Indonesia

ARTICLE INFO

Keywords:

Nitrogen
Intake
Excretion
Cattle
Goats
Sheep

ABSTRACT

The quantification of faecal nitrogen (FN) and of urinary urea-N (UUN) and urinary non-urea-N (UNUN) excretion at varying N contents in ruminant rations is an important tool in assessing endogenous N turnover via the rumino-hepatic cycle. Using a statistical analysis based on an extensive database, the aim of this meta-analysis was to evaluate correlations derived previously by deduction. The data were categorised into dairy cattle, growing cattle (bulls and heifers), sheep and goats. Data from 50 publications were considered. The independent variable was the daily N intake (NI, g/day). The dependent variables were the daily quantities (g/day) of FN, urinary N (UN), UUN, UNUN and N retention. The NI influenced FN to differing extents in goats, dairy cattle, growing cattle and sheep (listed in descending order of influence). Except in sheep, the effect was statistically significant. The influence on UN varied in the order goats, growing cattle, dairy cattle and sheep; the effect was statistically significant only for dairy cattle and growing cattle ($P < 0.001$). The UUN was influenced in the order sheep, goats, dairy cattle and growing cattle ($P < 0.05$). The UNUN could be assessed only in dairy cattle, growing cattle and sheep and was not influenced by NI. The UUN is therefore more strongly dependent on NI than is UNUN and the latter can therefore continue to be seen as obligatory. The FN is indeed influenced by NI but, as a result of higher digestibility of the total ration with increasing crude protein content, an improvement in microbial crude protein synthesis can also be assumed, which is reflected in higher FN levels.

1. Introduction

Nitrogen (N) in the form of amino acids is an essential nutrient for ruminants. Besides all the ideas about reducing or avoiding N losses in the feed chain (Tammaing, 1992; Yang et al., 2010), it is important to avoid an inadequate N supply not tailored to the animals' needs, and its influence on performance (Fanchone et al., 2013). An N supply optimised for ruminants is not necessarily accompanied by maximum growing or milking performance, even though this would be desirable (Spek et al., 2013).

Ultimately, all ruminants need absorbable amino acids in the small intestine originating largely from rumen microbial crude protein (MCP) synthesis and, in smaller quantities, from ruminally undegraded dietary CP (UDP). To improve N utilization efficiency, it is vital to expand current data and knowledge. The amino acid content of MCP and UDP, and models for estimating the intermediary, i.e. post-absorptive availability and utilization of these amino acids, especially

methionine and lysine, represent an important basis for providing ruminants with a tailored supply of amino acids (Schuba and Südekum, 2013).

To use N-containing feed resources as efficiently as possible, it is important to quantify the minimum supply of N compounds that ruminants require (Pfeffer et al., 2016). The potential of N recycling via the rumino-hepatic cycle can be fully utilised only if the feed N content is as low as possible (Walker et al., 2005), e.g., only 80% of recommended supply with a shortage in rumen-degradable N compounds (Fanchone et al., 2013).

A sufficient volume of reliable data on the N content of faeces (FN) and urine (UN) (including appropriate fractionation into urinary urea-N (UUN) and urinary non-urea-N (UNUN)) is necessary in order to assess N turnover in ruminants and thus to derive recommendations for N supply. From the proportions of UUN in particular, it is possible to draw conclusions regarding the efficiency of MCP synthesis. For example, protein utilization and MCP (indirectly) can be estimated

* Corresponding author.

E-mail address: ksue@itw.uni-bonn.de (K.-H. Südekum).

¹ Deceased.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.01.017>

Received 27 August 2016; Received in revised form 28 January 2017; Accepted 30 January 2017
1871-1413/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

based on the ratio of UUN to allantoin-N (e.g., Kehraus et al., 2006). Moreover, UN and UUN correlate closely with N intake (NI). The UN or UUN fractions can therefore be predicted based on the concentration of CP in the ration (or the urea excreted in milk) (Spek et al., 2013). In contrast to UUN, UNUN and FN are only marginally affected by CP levels in the feed and are therefore unavoidable (Pfeffer et al., 2010). This approach has been confirmed repeatedly in both growing cattle and small ruminants. For example, Cox (2013) showed a 13–88% variation in the fraction of UUN in UN in growing goats fed an increasing supply of CP. In general, therefore, UUN increases with increasing feed N content, whereas UNUN should be seen as virtually independent of N supply.

The UNUN (UNUN=UN-UUN) consists primarily of purine derivatives (mainly allantoin), creatine, hippuric acid and ammonium. In addition, the purine derivative allantoin is a good indicator of the efficiency of microbial protein synthesis, while hippuric acid can be seen as an indicator of the digestibility of plant material. Hippuric acid is an indicator of plant material containing lignocellulose (Kehraus et al., 2006).

Previous studies on the relationship between NI, other dietary factors and N excretion used data of only one ruminant species (cattle; e.g., Reed et al., 2015; Johnson et al., 2016) or category within species (lactating dairy cattle; e.g., Spek et al., 2013; beef cattle, e.g., Waldrip et al., 2013) and some authors also did not differentiate UN into UUN and UNUN (Waldrip et al., 2013; Reed et al., 2015; Johnson et al., 2016). This study used data on small and large ruminants and differentiated UN into UUN and UNUN because the assumption was that, biologically, the response of all ruminant species to increasing NI is not dependent on the species or category (e.g., dairy vs. beef), as surplus N will always result in greater UN, and in particular, UUN excretion.

This meta-analysis therefore aims to pursue and investigate the following hypothesis on the basis of an updated, expanded data set: Regardless of the species or category of ruminant (dairy cattle, growing cattle, sheep or goats), both FN and UNUN are unaffected by a variation in N supply and can therefore be seen as obligatory for derivations of N requirements.

2. Materials and methods

2.1. Description of database

The database used in this meta-analysis was constructed from 50 publications (see Appendix A). The breakdown is as follows: 27 publications on dairy cattle, 6 publications on growing cattle, 10 publications on sheep and 7 publications on goats. The crucial selection criterion in each case was that all relevant N fractions in faeces and urine were quantified, rather than calculated or derived. The data set included the species and sample size studied in each publication, plus dry matter intake (DMI), CP, NI, FN, UN, UUN and UNUN. For dairy cattle, the data also included milk urea, milk fat, milk protein and milk yield. All data were expressed both as absolute quantities and as concentrations. However, for reasons of clarity and to improve comparability, this publication only presents the absolute figures (g/day) except for milk fat and protein and milk urea, which were expressed as concentrations. Table 1 summarises the statistical distribution of the variables tested in the data for each animal species or category. For ease of reading, the term 'species' is used throughout, also when referring to a category within the species 'cattle'.

2.2. Statistical analyses

Data compiled in the database were analysed using mixed model regression methodology (St-Pierre, 2001; Sauviant et al., 2008). The NI (g/day) was treated as the independent variable and considered as fixed effect. Different studies were considered as random effects. The

Table 1
Statistical description of the database.

Animal species/ category	Variables (g/day unless otherwise stated)						
	DMI ^a (kg/day)	NI ^d	FN ^e	UN ^f	UUN ^g	UNUN ^h	
Dairy Cattle	n ^b	136	136	136	26	26	
	Mean	20.3	548.4	190.3	196.7	172.6	45.8
	Maximum	30.2	827.0	386.0	342.0	240.0	77.0
	Minimum	7.2	104.8	51.0	41.0	63.0	13.0
	SD ^c	4.6	154.9	66.2	68.5	47.6	14.2
Growing Cattle	n	29	29	29	23	18	18
	Mean	6.4	130.5	40.5	50.2	30.3	18.0
	Maximum	15.5	272.0	115.0	120.8	95.8	25.0
	Minimum	3.9	87.6	21.1	13.6	1.5	12.1
	SD	2.9	42.3	18.5	32.1	32.8	4.3
Sheep	n	27	27	27	21	27	10
	Mean	1.0	21.9	6.6	11.6	8.3	3.8
	Maximum	2.2	45.3	10.9	26.6	20.8	9.4
	Minimum	0.5	3.5	4.1	1.8	0.8	0.9
	SD	0.4	9.5	1.7	5.4	5.6	2.6
Goat	n	17	17	17	17	14	11
	Mean	1.1	24.9	7.8	9.7	4.5	1.8
	Maximum	1.8	43.9	12.0	18.1	14.6	2.5
	Minimum	0.6	7.2	2.6	1.3	0.2	1.2
	SD	0.5	12.4	3.3	5.0	4.1	0.5

^a DMI=Dry matter intake.

^b n=Number of rations.

^c SD=Standard deviation.

^d NI=Nitrogen intake.

^e FN=Faecal nitrogen excretion.

^f UN=Urinary nitrogen excretion.

^g UUN=Urinary urea-nitrogen excretion.

^h UNUN=Urinary non-urea-nitrogen excretion.

dependent variables were FN, UN, UUN, UNUN, N retention (NRet), milk yield, milk protein, milk fat and milk urea. Accordingly, the following model was used:

$$Y_{ij} = B_0 + B_1X_{ij} + B_2X_{ij}^2 + s_i + b_iX_{ij} + e_{ij}$$

where Y_{ij} =the dependent variable, B_0 =overall inter-study intercept (fixed effect), B_1 =the overall linear regression coefficient Y on X (fixed effect), B_2 =the overall quadratic regression coefficient Y on X (fixed effect), X_{ij} =the value of the continuous predictor variable, s_i =the random effect of the i th study, b_i =the random effect of study on the regression coefficient of Y on X, and e_{ij} =the residual error. The model was applied for each ruminant species, i. e. dairy cattle, growing cattle, sheep and goats. Model statistics used for this study was Akaike's information criterion (AIC), which was applied in model selection to measure the relative goodness of fit of a statistical model. In this study, AIC was used to select whether a model is quadratic or linear (lower AIC indicates better model fit), together with the P-value. When a quadratic model did not significantly explain the relationship between independent and dependent variables, the model was modified into a linear model by eliminating out the $B_2X_{ij}^2$ component. Since data were unbalanced among ruminant species and different variables, the meta-analyses were performed based on the available data.

3. Results

The regression analysis results are shown in Table 2, differentiated by species, with NI (g/day) serving as an independent variable in

Chapter 5 - Faecal and urinary nitrogen excretion of ruminants

J. Schuba et al.

Livestock Science 198 (2017) 82–88

Table 2

Equations for linear regression between dietary nitrogen level (independent variable) and faecal and urinary nitrogen-excretion (response variable; faecal nitrogen, urinary nitrogen, urinary urea nitrogen, urinary non-urea nitrogen, nitrogen retention, milk yield and milk composition of dairy cattle, growing cattle, sheep and goats.

Independent Variable = NI ^a		Parameter estimates									Model statistics
Species	Dependent Variable	Unit	Model ^b	n ^c	Intercept	SE ^d intercept	P int	Slope	SE slope	P slope	AIC ^d
Dairy Cattle	FN ^f	g/d	Q	136	117.3	53.5	0.038	3.24	0.47	<0.001	1509
Growing Cattle			L	29	17.51	22.01	0.457	2.6	0.54	0.005	271.9
Sheep			L	27	10.47	6.45	0.156	1.66	1.07	0.182	146.9
Goat			L	17	-2	2	0.391	3.7	0.26	<0.001	89.5
Cattle Dairy	UN ^g	g/d	L	136	322.3	25.4	<0.001	1.18	0.1	<0.001	1447.3
Growing Cattle			Q	23	41.25	8.13	0.004	1.89	0.2	<0.001	170.3
Sheep			L	21	11.86	2.3	0.002	0.88	0.27	0.017	132.8
Goat			Q	17	5.07	0.79	0.008	2.57	0.37	0.006	78.4
Cattle Dairy	UUN ^h	g/d	L	26	412.8	33.6	<0.001	1.35	0.2	0.001	240.5
Growing Cattle			L	18	76.16	8.7	0.0123	1.29	0.07	0.003	132
Sheep			Q	27	3.52	2.51	0.203	3.53	0.69	0.001	132.7
Goat			L	14	14.5	4.7	0.091	1.52	0.32	0.041	60.5
Cattle Dairy	UNUN ⁱ	g/d	L	24	700.5	48.4	<0.001	-1.01	1.09	0.395	261.3
Growing Cattle			L	18	-85.69	20.82	0.054	11.02	1.13	0.01	151.8
Sheep			L	10	14.37	5.33	0.074	2.21	1.91	0.333	65.7
Cattle Dairy	NRet ^j	g/d	L	61	568	29.5	<0.001	0.46	0.47	0.342	734.1
Growing Cattle			L	19	48.82	14.08	0.026	2.3	0.3	0.005	135.3
Sheep			L	16	15.66	2.73	0.011	1.4	0.66	0.124	93.2
Goat			L	11	13.38	9.86	0.404	2.49	1.13	0.271	62.6
Cattle Dairy	Milk yield	kg/d	Q	119	519.4	60.5	<0.001	-6.65	4.7	0.173	1308.5
Cattle Dairy	Milk protein	%	L	119	470.8	160.7	0.008	36.53	50.22	0.476	1323.5
Cattle Dairy	Milk fat	%	Q	119	620.4	29.5	<0.001	-8.88	3.97	0.037	1346.8
Cattle Dairy	Milk urea	mg/dL	L	66	477.6	39.1	<0.001	1.17	0.27	0.001	680.5

^a NI=Nitrogen intake (g/day).

^b Q=quadratic; L=linear.

^c n=Number of rations used.

^d AIC=Akaike's information criterion.

^e SE=Standard error.

^f FN=Faecal nitrogen excretion (g/day).

^g UN=Urinary nitrogen excretion (g/day).

^h UUN=Urinary urea-nitrogen excretion (g/day).

ⁱ UNUN=Urinary non-urea-nitrogen excretion (g/day).

^j NRet=Nitrogen retention (g/day).

relation to the various dependent variables (FN, UN, UUN, UNUN, NRet, all in g/day).

FN correlated positively with increasing NI in all species, in the order goats (quadratic model), dairy cattle, growing cattle and sheep. Only in sheep this effect was not statistically significant.

The UN also correlated positively with increasing NI in all species. For UN, the clearest effect was again shown in goats, in a quadratic model with a slope value of 2.57, followed by growing cattle (quadratic model), dairy cattle and sheep. This effect was significant for all species (P < 0.05).

UUN also showed a positive correlation with increasing NI for all four species. For UUN, the clearest effect of a variation in NI was shown for sheep, with a slope value of 3.53 in the quadratic model, followed by goats, dairy cattle and growing cattle. All effects were significant (P < 0.05).

For UNUN, no values could be ascertained for goats due to the limited data set. Sheep and growing cattle showed a positive correlation with increasing NI, and dairy cattle a negative correlation. With a slope value of 11.02 in growing cattle, a strong influence was identified following NI variation (P < 0.01). Contrary to growing cattle, sheep data had a much smaller slope value of only 2.21 and, just like in dairy cattle with a slope value of -1.01, no significant relationship between NI and UNUN was determined.

In the case of NRet, all four species showed positive correlations with increasing NI. Once again, it was in goats that NRet was most

dependent on NI variations (slope value=2.49), followed by growing cattle, sheep and dairy cattle. However, this effect was statistically significant only in growing cattle (P < 0.05).

Table 2 also includes the results for milk yield, milk protein, milk fat and milk urea in dairy cattle. In a linear model, a positive effect with increasing NI was found for milk urea (mg/dL) with a slope value of 1.17 (P < 0.001).

4. Discussion

4.1. Relationship between nitrogen intake and faecal nitrogen excretion

It can generally be assumed that FN is influenced only marginally, even with increasing NI (Röhrmoser et al., 1984; Kreuzer and Kirchgeßner, 1985; Fanchone et al., 2013). The FN usually remains unchanged or even falls slightly with increasing NI (Röhrmoser and Kirchgeßner, 1982). This study now shows a close correlation with NI across almost all species (not significant for sheep only), which needs to be discussed.

Faecal N can be divided into undigested feed N compounds (mainly fibre-bound N) and metabolic N compounds (Mason, 1969; Schwarm et al., 2009). Metabolic N consists of an endogenous fraction and, as main component, of microbial N. The proportion of microbial N excreted in faeces (i.e., undigested MCP from either ruminal or large

intestinal synthesis) is particularly influenced by feed quality and, specifically, by the digestibility of the feed. If the digestibility of the feed (especially roughage) increases, the CP content of the feedstuff usually increases as well (e.g., because forage is fertilised more intensively and harvested earlier). In addition, higher feed digestibility means that more fermentable energy is available to the ruminal microbes. Faecal excretion of MCP increases as a result, because MCP is not completely digested post-ruminally (Lukas et al., 2005). It is unlikely that varying amounts of undigested microbial CP from large intestinal synthesis would impact on this general relationship, as Richard et al. (2017), using a large dataset on mammals, found that “current empirical data does not support a concept of differences in metabolic losses between digestion types”. Digestion types also encompassed herbivores with foregut or hindgut fermentation chambers in the study of Richard et al. (2017).

Rodehutschord et al. (2000) nicely demonstrated this relationship for faecal phosphorus (P) and N losses in goats. Although equal quantities of P and N (g/day) were ingested in the three feeding groups, faecal P excretion and FN increased in the ration variant with higher digestibility. In this meta-analysis too, this connection initially appears to be the cause of the relationships found. However, in the authors' view, this correlation between NI and FN cannot be categorically assumed because, on closer inspection of the individual data on which this meta-analysis is based, 93% of the data were in the range below 11 g FN/kg DMI (see also Pfeffer et al. (2016)). Therefore, FN values over 11 g/kg DMI were rare and, almost without exception, found in the species ‘dairy cattle’.

In addition, the proportion of FN in rations containing tannins is usually higher even where the digestibility of the feed remains constant (Robbins et al., 1987; Tiemann et al., 2008; Alkindi et al., 2013). Tiemann et al. (2008) showed a dose-effect relationship with targeted application of tannin-rich fodder plants. The formation of tannin-protein complexes, which are virtually inaccessible for rumen microbes (Carulla et al., 2005), promotes a shift in N excretion from UN to FN (Robbins et al., 1987; Waghorn and McNabb, 2003; Carulla et al., 2005; Tiemann et al., 2008). However, the effect on the results presented here is almost negligible, as only one of the publications in this meta-analysis involved targeted application of tannins (Alkindi et al., 2013). A tannin content of > 5 g/kg DM, relevant for N binding (Barry and McNabb, 1999), is found in only a few common species of legume and foliage. Discussion is needed on whether this effect can be disregarded generally, that is to say for all domesticated ruminants. On the one hand, the introduction of tannins by feeding foliage is of relevance in the feeding of livestock particularly for low-producing ruminants in the tropics and subtropics. This kind of data was not included in the data set of this study. On the other hand, tannin levels in common legume species such as red clover (*Trifolium pratense*), lucerne (*Medicago sativa*) (Barry and McNabb, 1999), soybean and soybean commodities (*Glycine max*), faba bean (*Vicia faba*) and pea (*Pisum sativum*) (Reddy et al., 1985) are low. The feeding of legume species with a high (> 45 g/kg DM) native content of condensed tannins such as birdsfoot trefoil (*Lotus pedunculatus*) (Min et al., 2003; Terril et al., 1992), bigt trefoil (*Lotus corniculatus*) (Min et al., 2003) and sulla (*Hedysarum coronarium*) (Terril et al., 1992) is of minor practical relevance and, in small quantities as part of a mixed ration, would be so diluted that no effect could be expected.

However, precisely because effects can be clear in individual cases, future studies should always consider the aspect of N binding or a possible N shift from UN to FN depending on tannins or other N-binding substances.

4.2. Relationship between nitrogen intake and urinary nitrogen

These results underline previous results (e.g. Kreuzer and Kirchgeßner, 1985; Fanzone et al., 2013) showing that UN correlates strongly with NI. These data also emphasise that UN alone is not

suitable for estimating which proportion of urinary N is obligatory and which is not obligatory and is therefore – at least partially – avoidable.

4.3. Relationship between nitrogen intake and urinary urea nitrogen

Based on these results, UUN can continue to be seen as an excellent indicator of the efficiency of N turnover in ruminants. High UUN values indicate elevated and therefore excessive feed N content. Because absolute values across species of different body size and, therefore, DMI are not a meaningful measure, one can use feed N content for the purpose of comparison. Based on the derivations presented by Pfeffer et al. (2016), ruminant rations should contain the following N concentrations (per kg DM) to account for obligatory losses: 11 g for compensating losses as faecal N, 4 g for compensating losses as urinary non-urea-N and 1 g for compensating inevitable losses as urinary urea-N, totalling 16 g N/kg DM. Consequently, all feed N concentrations largely exceeding 16 g/kg DMI can be regarded as being excessive. Based on the same study, a ratio of UUN to UNUN > 1.5 is indicative of excessive feed N content. The correlations established by this meta-analysis confirm earlier studies (e.g. Kiran and Mutsvangwa, 2010), but also substantiate the previous assumptions by Pfeffer et al. (2016) founded on basic considerations and derived using a deductive and descriptive approach.

4.4. Relationship between nitrogen intake and urinary non-urea nitrogen

The precise statement postulated by Pfeffer et al. (2016), that UNUN should be regarded as virtually independent of NI and therefore as obligatory, cannot be confirmed in dairy cattle with a negative correlation (slope value = -1.01) in a linear test. In addition, only growing cattle (slope value = 11.02) show a positive dependency with increasing NI ($P < 0.05$) in a linear test. The reasons for this finding, different from the other species, are not clear. We will therefore continue to assume that UNUN should be regarded as obligatory (Pfeffer et al., 2010; Cox, 2013).

4.5. Relationship between nitrogen intake and nitrogen retention

Nitrogen retention can be calculated as the difference between NI minus the total of FN and UN. In linear tests it showed consistently positive correlations with NI. However, only those for growing cattle were statistically significant ($p = 0.005$). The statistically derived results show the difficulty in interpreting NRet. Kreuzer and Kirchgeßner (1985) presented a significant influence on NRet with variations in NI in dairy cattle. From the results of three feeding variants (meeting requirements, 25% above and 25% below requirements), they inferred that the variation in NRet is determined mainly by the influence of NI on UN (see also Pfeffer et al. (2010). Cox (2013), however, was able to demonstrate this in only one of three balance periods in growing goats (two feeding variants: NI = 8.0 or 18.3 g/day). Here too, the effect was explained by an increase in UN. However, two further balance periods (each with three feeding variants: NI = 7.5, 11.6, 18.0 or 7.2, 14.1, 18.4 g/day) showed no significant differences. This result is analogous to the conclusions of Kiran and Mutsvangwa (2010).

Some of the correlations shown also permit conclusions about the complexity of N turnover in ruminants. Positive effects on NRet are often associated with a concurrent improvement in ruminal energy supply. With a resulting increase in microbial protein synthesis, UUN will fall on the one hand and FN increase on the other (4.1.), which might even lead to an unchanged NRet. In the light of these considerations, therefore, the results for NRet cannot be assessed without also considering quantities of easily fermentable carbohydrates or rumen-available energy sources.

5. Conclusions

Even on the basis of an updated, expanded data set, this meta-analysis found for all species studied that UN and UUN in particular are clearly dependent on NI. In contrast, FN and UNUN should be seen as obligatory and are therefore influenced only marginally by increasing NI. The results for FN also show clearly that, in most of the trials, two linked variables influence microbial protein synthesis, namely dietary CP and feed digestibility. The hypothesis that FN should be seen as

obligatory can be proven in principle. However, in order to obtain even better derivations of quantitative requirements, it might be necessary to separate a variation in N supply from a variation in digestibility of feed and total ration. This was not possible on the basis of the available data.

Conflicts of interest statement

No conflict of interest exists.

Appendix A. List of references used to construct the database

- Alkindi, A., Schlecht, E., Schiborra, A., 2013. Nitrogen balance and rumen microbial protein synthesis in goats fed quebracho tannin and activated charcoal. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 22, 117.
- Brito, A.F., Broderick, G.A., 2006. Effect of varying dietary ratios of alfalfa silage to corn silage on production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 3924–3938.
- 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 ^{15}N -nitrogen. *J. Anim. Sci.* 64, 855–867.
- Castillo, A.R., Kebreab, E., Beever, D.E., Barbi, J.H., Sutton, J.D., Kirby, H.C., France, J., The effect of energy supplementation on nitrogen utilization in lactating cows fed grass silage diets. *J. Anim. Sci.* 79, 240–246.
- Chen, Z.H., Broderick, G.A., Luchini, N.D., Sloan, B.K., Devillard, E., 2011. Effect of different sources of rumen-protected methionine on milk production and N-utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94, 1978–1988.
- Cox, C., 2013. Experimentelle Untersuchungen zur Kinetik des Stickstoff-Umsatzes bei wachsenden Ziegenlammern unter Verwendung des stabilen Isotops ^{15}N . Diss. Univ. Gießen, VVB Laufersweiler Verlag, Giessen.
- De la Torre, G., Serradilla, J.M., Gil Extremera, F., Sanz Sampelayo, M.R., 2008. Nutritional utilization in Malaguena dairy goats differing in genotypes for the content of α_{S1} -casein in milk. *J. Dairy Sci.* 91, 2443–2448.
- Eisemann, J.H., Hammond, A.C., Rumsey, T.S., Bauman, D.E., 1989. Nitrogen and Protein metabolism and metabolites in plasma and urine of beef steers treated with somatotropin. *J. Anim. Sci.* 67, 105–115.
- Fanchone, A., Noziere, P., Portelli, J., Duriot, B., Largeau, V., Doreau, M., 2013. Effects of nitrogen underfeeding and energy source on nitrogen ruminal metabolism, digestion, and nitrogen partitioning in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 91, 895–906.
- Flis, S.A., Wattiaux, M.A., 2005. Effects of parity and supply of rumen-degraded and undegraded protein on production and nitrogen balance in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 88, 2096–2106.
- Foley, A.E., Hristov, A.N., Melgar, A., Ropp, J.K., Etter, R.P., Zaman, S., Hunt, C.W., 2006. Effect of barley and its amylopectin content on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 4321–4335.
- Galo, E., Emanuele, S.M., Sniffen, C.J., White, J.H., Knapp, J.R., 2003. Effects of polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86, 2154–2162.
- Gozho, G.H., Hobin, M.R., Mutsvangwa, T., 2008. Interactions between barley processing and source of supplemental dietary fat on nitrogen metabolism and urea-nitrogen recycling in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91, 247–259.
- Gozho, G.H., Mutsvangwa, T., 2008. Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance, and microbial protein synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91, 2726–2735.
- Gressley, T.F., Armentano, L.E., 2005. Effect of abomasal pectin infusion on digestion and nitrogen balance in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88, 4028–4044.
- Groff, E.B., Wu, Z., 2005. Milk production and nitrogen excretion of dairy cows fed different amounts of protein and varying proportions of alfalfa and corn silage. *J. Dairy Sci.* 88, 3619–3632.
- Haig, P.A., Mutsvangwa, T., Spratt, R., McBride, B.W., 2002. Effects of dietary protein solubility on nitrogen losses from lactating dairy cows and comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. *J. Dairy Sci.* 85, 1208–1217.
- Kebreab, E., Castillo, A.R., Beever, D.E., Humphries, D.J., France, J., 2000. Effects of management practices prior to and during ensilage and concentrate type on nitrogen utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, 1274–1285.
- Kiran, D., Mutsvangwa, T., 2010. Effects of partial ruminal defaunation on urea-nitrogen recycling, nitrogen metabolism, and microbial nitrogen supply in growing lambs fed low or high dietary crude protein concentrations. *J. Anim. Sci.* 88, 1034–1047.
- Kraushaar, J., Breves, G., 2013. Influence of nitrogen-restrictive diets on nitrogen-balances and rumen microbial parameters in goats. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 22, 35.
- Knowlton, K.F., Herbein, J.H., Meister-Weißbarth, M.A., Wark, W.A., 2001. Nitrogen and phosphorus partitioning in lactating Holstein cows fed different sources of dietary protein and phosphorus. *J. Dairy Sci.* 84, 1210–1217.
- Knowlton, K.F., Wilkerson, V.A., Casper, D.P., Mertens, D.R., 2010. Manure nutrient excretion by Jersey and Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93, 407–412.
- Lascano, G.J., Velez, M., Tricario, J.M., Heinrichs, A.J., 2012. Short communication: Nutrient utilization on fresh sugarcane-based diets with slow-release nonprotein nitrogen addition for control-fed dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 95, 370–376.
- Lobley, G.E., Bremner, D.M., Zuur, G., 2000. Effects of diet quality on urea fates in sheep as assessed by refined, non-invasive [^{15}N , ^{15}N]urea kinetics. *Br. J. Nutr.* 84, 459–468.
- Marini, J.C., Van Amburgh, M.E., 2003. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. *J. Anim. Sci.* 81, 545–552.
- Marini, J.C., Van Amburgh, M.E., 2005. Partition of nitrogen excretion in urine and faeces of Holstein replacement heifers. *J. Dairy Sci.* 88, 1778–1784.
- Molina-Alcaide, E., Morales-Garcia, E.Y., Martin-Garcia, A.I., Ben Salem, H., Nefzaoui, A., Snaz-Sampelayo, M.R., 2010. Effects of partial

replacement of concentrate with feed blocks on nutrient utilization, microbial N-flow, and milk yield and composition in goats. *J. Dairy Sci.* 93, 2076–2087.

- Mugerwa, J.S., Conrad, H.R., 1971. Relationship of dietary nonprotein nitrogen to urea kinetics in dairy cows. *J. Nutr.* 101, 1331–1342.
- Mulligan, F.J., Dillon, P., Callan, J.J., Rath, M., O'Mara, F.P., 2004. Supplementary concentrate type affects nitrogen excretion of grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 3451–3460.
- Noftsker, S., St-Pierre, N.R., 2003. Supplementation of methionine and selection of highly digestible rumen undegradable protein to improve nitrogen efficiency for milk production. *J. Dairy Sci.* 86, 958–969.
- Nolan, J.V., Leng, R.A., 1972. Dynamic aspects of ammonia and urea in sheep. *Br. J. Nutr.* 27, 177–194.
- 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.
- Norton, B.W., Murray, A.M., Entwistle, K.W., Nolan, J.V., Ball, F.M., Leng, R.A., 1978. The nitrogen metabolism of sheep consuming Flinders grass (*Iselema* spp.), Mitchell grass (*Astrelba* spp.) and mixed native pasture. *Aust. J. Agric. Res.* 29, 595–603.
- Obara, Y., Shimbayashi, K., 1980. The appearance of recycled urea in the digestive tract of goats during the final third of a once daily feeding of a low-protein ration. *Br. J. Nutr.* 44, 295–305.
- Olmos Colmenero, J.J., Broderick, G.A., 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 1704–1712.
- Petit, H.V., Ivan, M., Mir, P.S., 2005. Effects of flaxseed on protein requirements and N excretion of dairy cows fed with two protein concentrations. *J. Dairy Sci.* 88, 1755–1764.
- Pfeffer, E., Holthausen, A., Griese, H., Hovenjürgen, M., Kehraus, S., Boeser, U., Loeff, M., 2009a. Untersuchungen an Mastfärsen über Stickstoff-Ausscheidungen bei Fütterung von Mischrationen mit unterschiedlichen Gehalten an Rohprotein. *Züchtungskde.* 82, 144–154.
- Pfeffer, E., Speckter, H., Bornemann, S., Holthausen, A., Rodehutsord, M., 2009b. Kinetics of endogenous urea in lactating goats and cows fed diets varying in their crude protein concentrations. *Arch. Anim. Nutr.* 63, 230–424.
- Prior, R.L., 1976. Effects of dietary soy or urea nitrogen and feeding frequency on nitrogen metabolism, glucose metabolism and urinary metabolite excretion in sheep. *J. Anim. Sci.* 42, 160–167.
- 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.
- Reynal, S.M., Broderick, G.A., 2005. Effect of dietary level of rumen-degraded on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88, 4045–4064.
- Ruppert, L.D., Drackley, J.K., Bremmer, D.R., Clark, J.H., 2003. Effects of tallow in diets based on corn silage or alfalfa silage on digestion and nutrient use by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 593–609.
- Sarraseca, A., Milne, E., Metcalf, M.J., Loble, G.E., 1998. Urea recycling in sheep: effects of intake. *Br. J. Nutr.* 79, 79–88.
- Sutoh, M., Obara, Y., Miyamoto, S., 1996. The effect of sucrose supplementation on kinetics of nitrogen, ruminal propionate and plasma glucose in sheep. *J. Agric. Sci.* 126, 99–105.
- Susmel, P.S., Spangero, M., Stafanson, 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.
- Van der Veen, J.W., Boling, J.A., Bunting, L.D., 1989. Alteration of nitrogen metabolism by alpha-ketoglutarate administration in growing lambs fed high nonprotein nitrogen-containing diets. *J. Anim. Sci.* 67, 2386–2392.
- Wattiaux, M.A., Karg, K.L., 2004. Protein level for alfalfa and corn silage-based diets: II. Nitrogen balance and manure characteristics. *J. Dairy Sci.* 87, 3492–3502.
- Wessels, R.H., Titgemeyer, E.C., 1997. Protein requirements of growing steers limit-fed corn-based diets. *J. Anim. Sci.* 75, 3278–3286.
- Wright, T.C., Holib, B.J., Hill, A.R., McBride, B.W., 2003. Effect of combinations of fish meal and feather meal on milk fatty acid content and nitrogen utilization in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 861–869.
- Yan, T., Frost, J.P., Keady, T.W.J., Agnew, R.E., Mayne, C.S., 2007. Prediction of nitrogen excretion in faeces and urine of beef cattle offered diets containing grass silage. *J. Anim. Sci.* 85, 1982–1989.

References

- Alkindi, A., Schlecht, E., Schiborra, A., 2013. Nitrogen balance and rumen microbial protein synthesis in goats fed quebracho tannin and activated charcoal. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 22, 117.
- Barry, T.N., McNabb, W.C., 1999. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. Review article. *Br. J. Nutr.* 81, 263–272.
- Carulla, J.E., Kreuzer, M., Machmüller, A., Hess, H.D., 2005. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 56, 961–970.
- Cox, C., 2013. Experimentelle Untersuchungen zur Kinetik des Stickstoff-Umsatzes bei wachsenden Ziegenlämmern unter Verwendung des stabilen Isotops ^{15}N (Diss.). Universität Gießen. VVB Lauferweiler Verlag, Giessen.
- Fanchone, A., Nozière, P., Portelli, J., Duriot, B., Largeau, V., Doreau, M., 2013. Effects of nitrogen underfeeding and energy source on nitrogen ruminal metabolism, digestion, and nitrogen partitioning in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 91, 895–906.
- Johnson, A.C.B., Reed, K.F., Kebreab, E., 2016. Short communication: evaluation of nitrogen excretion equations from cattle. *J. Dairy Sci.* 99, 7669–7678.
- Kehraus, S., Südekum, K.-H., Pfeffer, E., 2006. Einflussfaktoren auf die Ausscheidung N-haltiger Verbindungen im Harn von Wiederkäuern. *Übers. Tiere.* 34, 125–164.
- Kiran, D., Mutsaers, T., 2010. Effects of partial ruminal defaunation on urea-nitrogen recycling, nitrogen metabolism, and microbial nitrogen supply in growing lambs fed low or high dietary crude protein concentrations. *J. Anim. Sci.* 88, 1034–1047.
- Kreuzer, M., Kirchgessner, M., 1985. N-Ansatz und N-Verwertung bei Kühen während und nach überhöhter Proteinversorgung. 2. Mitteilung, zum Einfluß von Proteinfehlernährung bei laktierenden Kühen und daraus entstehenden Nachwirkungen. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkde.* 53, 270–279.
- Lukas, M., Südekum, K.-H., Rave, G., Friedel, K., Susenbeth, A., 2005. Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. *J. Anim. Sci.* 83, 1332–1344.
- Mason, V.C., 1969. Some observations on the distribution and origin of nitrogen in sheep faeces. *J. Agric. Sci.* 77, 91–98.
- Min, B.R., Barry, T.N., Atwood, G.T., McNabb, W.C., 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106, 3–19.
- Pfeffer, E., Holthausen, A., Griese, H., Hovenjürgen, M., Kehraus, S., Boeser, U., Loeff, M., 2010. Untersuchungen an Mastfärsen über Stickstoff-Ausscheidungen bei Fütterung von Mischrationen mit unterschiedlichen Gehalten an Rohprotein. *Züchtungskde* 82, 144–154.
- Pfeffer, E., Schuba, J., Südekum, K.-H., 2016. Nitrogen supply in cattle coupled with appropriate supply of utilisable crude protein at the duodenum, a precursor to metabolisable protein. *Arch. Anim. Nutr.* 70, 293–306.
- Reed, K.F., Moraes, L.E., Casper, D.P., Kebreab, E., 2015. Predicting nitrogen excretion from cattle. *J. Dairy Sci.* 98, 3025–3035.
- Reddy, N.R., Pierson, M.D., Sathe, S.K., Salunkhe, D.K., 1985. Dry bean tannins: a review of nutritional implications. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62, 541–549.
- Richard, O.K., Codron, D., Hagen, K.B., Südekum, K.-H., Clauss, M., 2017. Little differences in digestive efficiency for protein and fat in mammals of different trophic

- guilds and digestive strategies: data constraints or fundamental functional similarity? *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* <http://dx.doi.org/10.1111/jpn.12657>.
- Robbins, C.T., Hanley, T.A., Hagermann, A.E., Hjeljord, O., Baker, D.L., Schwartz, C.C., Mautz, W.W., 1987. Role of tannins in defending plants against ruminants: reduction in protein availability. *Ecology* 68, 98–107.
- Rodehutscoord, M., Heuvers, H., Pfeffer, E., 2000. Effect of organic matter digestibility on obligatory faecal phosphorus loss in lactating goats, determined from balanced data. *Anim. Sci.* 70, 561–568.
- Röhrmoser, G., Kirchgäßner, M., 1982. Nährstoffverdaulichkeit und Stickstoffverwertung laktierender Kühe bei energetischer Restriktion und anschließender Realimentation. *Wirtschaftseig. Futter* 28, 133–146.
- Röhrmoser, G., Kirchgäßner, M., Müller, H.L., 1984. Nährstoffverdaulichkeit und Stickstoffverwertung laktierender Kühe bei Unterversorgung an protein und anschließender Realimentation. *Arch. Tierernähr.* 34, 519–530.
- Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J.J., St-Pierre, N.R., 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal* 2, 1203–1214.
- Schuba, J., Südekum, K.-H., 2013. Pansengeschützte Aminosäuren in der Milchkühhütterung unter besonderer Berücksichtigung von Methionin und Lysin. *Übers. Tiere* 40, 113–149.
- Schwarm, A., Schweigert, M., Ortmann, S., Hummel, J., Janssens, G.P.J., Streich, W.J., Clauss, M., 2009. No easy solution for the fractionation of faecal nitrogen in captive wild herbivores: results of a pilot study. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 93, 596–605.
- Spek, J.W., Dijkstra, J., van Duinkerken, G., Hendriks, W.H., Bannink, A., 2013. Prediction of urinary nitrogen and urinary urea nitrogen excretion by lactating dairy cattle in northwestern Europe and North America: a meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 96, 4310–4322.
- St-Pierre, N.R., 2001. Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *J. Dairy Sci.* 84, 741–755.
- Tamminga, S., 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *J. Dairy Sci.* 75, 345–357.
- Terril, T.H., Rowan, A.M., Douglas, G.B., Barry, T.N., 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J. Sci. Food Agric.* 58, 321–329.
- Tiemann, T.T., Lascano, C.E., Wettstein, H.-R., Mayer, A.C., Kreuzer, M., Hess, H.D., 2008. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animal* 2 (5), 790–799.
- Waghorn, G.C., McNabb, W.C., 2003. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 383–392.
- Waldrup, H.M., Todd, R.W., Cole, N.A., 2013. Prediction of nitrogen excretion by beef cattle: a meta-analysis. *J. Anim. Sci.* 91, 4290–4302.
- Walker, N.D., Newbold, C.J., Wallace, R.J., 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. In: Pfeffer, E., Hristov, A. (eds.), *Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle. Reducing the Environmental Impact of Cattle Operations*. CABI Publishing, Wallingford, pp. 71–115.
- Yang, W.R., Sun, H., Wang, Q.Y., Liu, F.X., Yang, Z.B., 2010. Effects of rumen-protected methionine on dairy performance and amino acid metabolism in lactating cows. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 5, 1–7.

CHAPTER 6

General discussion

This paper initially focuses on shedding light on two issues in livestock nutrition for increasing the efficiency of N utilisation, namely the targeted calculation of small intestinal absorbable AA and the reduction of CP concentrations/kg DM. Analogous to the issues addressed in the three publications, this paper will also initially examine the question of AA calculation and RPAA supplementation.

Reduced nitrogen and crude protein supply and amino acid supplementation

A minimal yet adequate supply of N allows CP concentration (g CP/kg DM) to be reduced in practical ration design. This may result in individual AA being underrepresented in the intestinally absorbed AA profile, which may require the targeted, calculated supplementation of rumen protected Met (RPMet) and/or Lys (RPLys). The following section will therefore provide a final discussion of ongoing challenges in calculating AA requirements and supplies (supplementary to the discussions in Chapter 3: 4 and 5).

Schröder (2010) uses two CP-reduced rations balanced for Met and Lys respectively as examples for showing that this approach seems to be practically suitable for calculating Met and Lys supply based on an extended uCP system (Schröder et al. 2008) (numerical effects of controls vs. CP reduction for milk yields in kg/d: 33.2 vs. 34.1 and 33.5 vs. 34.8 respectively, and milk protein in %: 3.45 vs. 3.51 and 3.42 vs. 3.43 respectively). According to the extended uCP system, RPMet was supplemented in keeping with needs (adequacy of Lys control vs. CP reduction in %: 96.5 vs. 96.9 and 96.2 vs. 96.2 respectively; adequacy of Met control vs. CP reduction in %: 87.0 vs. 100.0 and 84.4 vs. 98.8 respectively). CP was additionally reduced (CP %/kg DM: 17.7 vs. 16.5 and 17.3 vs. 16.3 respectively). Contrary to recognised scientific citing practice, Schröder's cited paper (2010) was not published in a recognised peer-reviewed journal. However, this was unavoidable in the present case, as this working group is one of the few to drive and publish research on issues around the extended uCP system. There is no other current research on this topic except for the papers cited in Chapter 3. In contrast to Schröder et al. (2010), Socha et al. (2005) could describe significant effects on energy and fat corrected milk (both in kg/d), milk fat and milk protein (both %) for cows receiving a CP-reduced ration

with supplemented RPAA (16.0 % CP/kg DM plus Met and Lys vs. 18.5 % CP/kg DM without RPAA). Results presented by Awawdeh (2016) describe the existing challenges in the current evaluation systems. Effects for milk protein (%; $p < 0.05$) were described for supplemental RPMet and RPLys in contrast to Met as single RPAA. Also cows receiving diets with supplemented RPAA Met (30.5 kg/d) and Met plus Lys (31.4 kg/d) produced more milk than cows receiving no RPAA (29.1 kg/d; $p < 0.05$). Control diets were formulated to meet CP-requirements. If there are effects for Met- and Lys-Supplementation, the supply of metabolisable protein might have been overestimated.

As early as 1993, Iburg derived a model for Met and leucine requirements in lactating dairy cows using N balance measurements (based on Rohr and Lebzien (1991)). They concluded that the absorption level of Met was 90 % and of leucine was 87 %, but also pointed out the difficulty of utilising individual AA for different metabolic processes (“... *the portion of AA quantities to be absorbed on a daily basis that appears in milk, meat, foetuses or wool, ...*”). The distinction of different areas of AA utilisation in maintenance, lactation, gravidity and changes in live weight allows first insights to be gained in the problematic nature of relevant calculations, as each of these functional areas has its specific needs in terms of AA profiles. The importance of these different functional areas varies throughout the course of lactation and production (dry period/lactation, gravidity/days open), which impacts on the constellation of the AA profile that is ultimately required. An example of this is Met (see also Chapter 3: 3.2, 3.3, Table 4). The conversion of Met into milk protein in the mammary gland also depends on the availability of glucogenic substances and their respective portions in propionate, lactate, AA and other glucogenic substrates (Matthé et al. 2000). A “metabolic prioritisation” of the use of glucogenic AA such as Met, for example, is not taken into adequate account in any of the AA calculation models. The alternative use of Met as a methyl group donor for choline synthesis makes the calculation even more difficult (Zanton et al. 2014), as it can account for up to 28 % of Met available for metabolic processes (Lobley et al. 1996). Another example is Lys as a ketogenic AA for the synthesis of acetyl-CoA. It additionally appears that the AA supply required for the production of milk protein is actively influenced and controlled by processes around the mammary gland (Maas et al. 1998) by means of regulated blood inflow rates and the selective proportional extraction of individual AA.

Current AA evaluation systems focus on the intestinal absorbability of individual AA (and RPAA) (Chapter 3: 4). A comparison of AA absorption rates as measured in the portal vein and the apparent small intestinal digestibility of AA reveals differences (Met 67 %, Lys 55 %)

(Lapierre et al. 2006). Accordingly, the intestinal digestibility of AA is not equivalent to either the intestinal absorption or the hepatic availability of AA. Yet the currently used AA evaluation systems do not take these variables into adequate account. Research on the implementation of the above-mentioned metabolic control mechanisms is essential if the predictive accuracy of current AA calculation models is to be improved (Arriola Apelo et al. 2014b).

Regulatory and obligatory nitrogen excretion

The potential for improving the efficiency of N utilisation is examined not only from the perspective of AA calculation and RPAA supplementation, but also via a critical analysis of the derivation of minimally required N concentrations per unit of feed intake. An alternative approach is presented in this context, which is compared to the current approach to determining net N requirements (and resulting uCP feeding recommendations respectively, referred to as RGuCP (Requirements for utilisable crude Protein according to GfE (2001) in the following) (GfE 2001) below. Based on the calculations performed (Chapter 4), the following conclusions can be drawn with reference to the derivations regarding the supply of dairy cows with uCP according to GfE (2001) (Chapter 1: 1.3).

Reduced NI results in lower UN and UUN (both expressed in g/d). This is confirmed by earlier derivations (e.g. Burgos et al. 2007, Dong et al. 2014, Mutsvangwa et al. 2016). For the time being, the additional conclusion can be drawn that FN must be assumed to be independent of NI and thus obligatory, as is UNUN. This is initially consistent with the results obtained by Mutsvangwa et al. (2016), but the correlation only applies if effects of tannins (see also Chapter 5 and Al-Kindi et al. 2016), protein fixation in fraction C according to CNCPS (Chapter 3: 2.3) can be excluded. Based on these results, UN can be differentiated in UUN and UNUN, and the proportional obligatory excretions in FN and UNUN (Figure 1).

Based on the derivations regarding the net N requirements according to GfE (2001), the following obligatory N concentration/kg DM can be established, which can be used for calculating a possible recommendation for the supply of dairy cows with CP:

$$11 \text{ g FN} + 4 \text{ g UNUN} + 1 \text{ g UUN} = 16 \text{ g N/kg DM}$$

The full dataset for the derivation of FN with all individual values is provided, not least because the 11 g portion of FN in the minimal total N requirement of 16 g N/kg DM is disproportionately high (Appendix: Table 1). This provides an overview of the individual trials

including the respective N levels. The dataset may also be useful as a basis for further research and derivations regarding this issue (references cited in Appendix: Table 1 are presented in Chapter 5: Appendix).

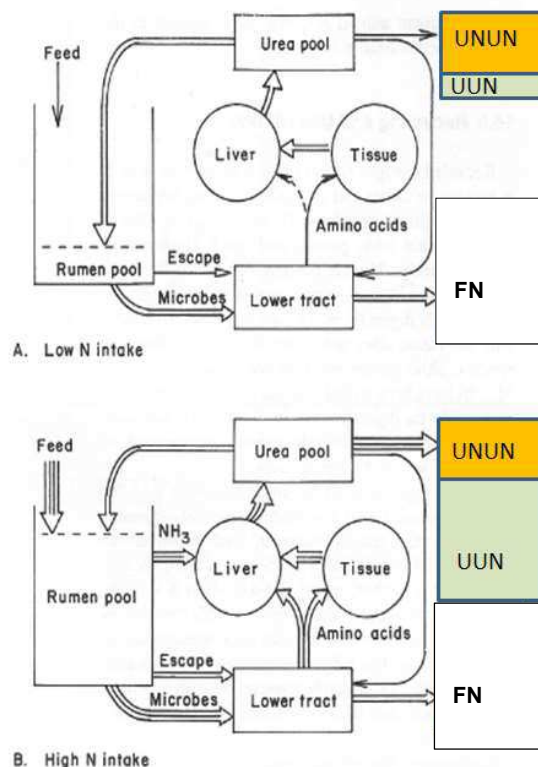


Figure 1: Comparison between low and high nitrogen intake, assuming equal dietary energy (according to van Soest (1994), modified)

The relevant concentrations of CP/kg DM can be calculated by multiplying the established value of 16 g N/kg DM by 6.25 (Chapter 4: Table 5). These CP concentrations (g/kg DM) required for a stable N balance are in the following referred to as RPCP (Requirements for crude protein according to Pfeffer et al. (2016)).

Comparison of the derived requirements

It is essential to discuss a fundamental approach to deriving RPCP to start with. Chapter 4: Table 5 sets out "requirements of crude protein (g/kg DM) for a stable N balance in dairy cattle". This identification of CP feeding recommendations while assuming a "concurrent adequate supply with uCP" in fact generates difficulties in interpreting and comparing RPCP and RGuCP. CP and uCP are fundamentally different approaches to evaluating the protein

supply of dairy cows. Yet a comparison of RGuCP and RPCP (Table 1) is worthwhile if one takes into account that uCP and CP values approximate each other in practical dairy cow feeding with increasing performance levels. RNB tends more and more towards 0 g/kg DM with increasing milk yields. Table 4 shows that there is a certain “overestimation” of CP requirements in RPCP, especially in the lower performance segments up to about 30 kg/d milk yields.

Table 1: Comparison of the requirements for utilisable crude protein according to GfE (2001) (RGuCP) and requirements for crude protein according to Pfeffer et al. (2016) (RPCP)

Milk yield kg/d	Intake		RGuCP ^c		RPCP ^d	
	DMI ^a kg/d	ME ^b (MJ/d)	g/d	g/kg DM	NEL ^e (MJ/kg DMI)	CP ^f (g/kg DMI)
10	12.5	120	1230	98	5.2 - 6.4	125 - 131
15	14.5	145	1650	114	5.6 - 6.8	133 - 140
20	16.0	170	2050	128	5.6 - 7.2	137 - 148
25	18.0	195	2460	137	6.0 - 7.6	143 - 154
30	20.0	220	2880	144	6.0 - 7.6	145 - 157
35	21.5	240	3280	153	6.4 - 7.6	150 - 160
40	23.0	265	3680	160	6.4 - 7.6	152 - 162
45	24.5	290	4080	167	6.8 - 7.6	156 - 163
50	26.0	315	4480	172	6.8 - 7.6	158 - 164

Notes: ^aDMI, Dry matter intake; ^bME, Metabolisable energy (MJ/d); ^cRGuCP, Requirements for utilisable crude Protein according to GfE (2001); ^dRPCP, Requirements for crude protein according to Pfeffer et al. (2016); ^eNEL, Net energy for lactation (MJ/kg DM); ^fCP, Crude protein.

Table 2: Requirements for crude protein (CP) and utilisable crude protein (uCP) (according to Ulbrich et al. 2006)

Milk yield kg/d	Intake		practical requirement uCP ^c		practical requirement CP ^d	
	DMI ^a kg/d	NEL ^b (MJ/d)	g/d	g/kg DM ^e	g/d	g/kg DM
10	13.0	71	1300	100	1350	104
20	16.5	104	2150	130	2200	133
30	20.0	137	3000	150	3050	153
40	23.5	170	3850	164	3900	166
50	26.5	203	n.n. ^f	n.n.	4750	179

Notes: ^aDMI, Dry matter intake; ^bNEL, Net energy for lactation (MJ/kg DM); ^cuCP, Utilisable protein; ^dCP, Crude protein; ^eDM, Dry matter; ^fn.n., Not named.

The RPCP appears to be at least slightly increased in view of a practical trial conducted by Etle et al. (2010), in which 148 g CP/kg DM was provided for late lactation (20 - 25 kg milk yield) in the “*RNB high group*” (+6 g RNB/DM) and 134 g CP/kg DM was provided in the “*RNB low group*” (-19 g RNB/kg DM).

The following can therefore be initially established based on a first integration of RPCP with current recommendations on the CP and uCP supply of lactating dairy cows:

The calculated CP concentrations/kg DM according to RPCP evidently only suggest any potential for reducing CP concentrations/kg DM in the first third of the lactation period with milk yields >40 kg/d. As a consequence, it would only be possible to reduce N and therefore UN, UUN (and MUN) in this same performance segment. RPCP and RGuCP approximate each other with increasing milk yield levels (Table 1), and RPCP values are only lower than RGuCP values from 40 kg/d milk yield. The massive overestimation of CP concentrations in milk yields between 10 - 25 kg/d – up to 25 % for a milk yield of 10 kg/d – can therefore not be conclusively explained at this stage and requires additional research. This issue will be examined in greater detail in the following section. The assumptions shown are merely based on the calculations and data presented and require further research.

There are different derivations of the various protein evaluation systems for “utilisable” crude protein (Südekum 2002), which would hamper comparability. The RGuCP and RPCP feeding recommendations are therefore primarily integrated with results from trials conducted according to the German protein evaluation system (Table 3). Also, trials in the milk yield segment >30 kg/d are primarily shown, as it appears that RPCP are applicable in this performance segment, as set out above. However, in this context it is again indispensable, while contrary to common scientific citation practice, to include the citation of papers that have not been published in peer-reviewed journals. Yet this approach is unavoidable if the applicability of RPCP in trials calculated according to the German protein evaluation system is to be verified. (An initial, supplementary, general international review of CP reduction trials (g/kg DM) is given in Chapter 3: 5 and 6)

Table 3: Trials with crude protein reduction – a comparison of the requirements for utilisable crude protein according to GfE (2001) (RGuCP) and requirements for crude protein according to Pfeffer et al. (2016) (RPCP)

Level of Milk yield (rounded)	Stadium of Lactation	Group	Concentration of NEL ^d	Concentration of CP ^e	Concentration of uCP ^f	RGuCP ^g	Δ^h RGuCP	RPCP ⁱ	Δ RPCP	Milk yield trial ^k	Reference
kg/d	EL ^a /ML ^b /ENL ^c		MJ/kg	g/kg	g/kg	$\frac{g}{uCP/kg}$	g uCP/kg	g CP/kg	g CP/kg	kg/d	
20	ENL	0 ^l	n.n. ⁿ	148	146	128	18	142	6	22.6	Ettle et al. (2010)
20	ENL	reduc ^m	n.n.	134	143	128	15	142	-8	20.7	Ettle et al. (2010)
30	EL	0	n.n.	162	153	144	9	151	11	28.2	Ettle et al. (2010)
30	EL	reduc	n.n.	145	148	144	4	151	-6	27.6	Ettle et al. (2010)
30	EL, ML, ENL	0	6.9	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	31.2	van de Sand et al. (2006)
30	EL, ML, ENL	reduc	6.9	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	32.4	van de Sand et al. (2006)
30	n.n.	0	6.9	160	158	144	14	151	9	31.7	Jilg (2014)
30	n.n.	reduc	6.9	136	149	144	5	151	-15	29.1*	Jilg (2014)
30	n.n.	0	7.0	162	160	144	16	151	11	31.7	Jilg (2014)
30	n.n.	reduc	7.0	142	152	144	8	151	-9	29.1*	Jilg (2014)
35	EL	0	7.1	166	163	153	10	156	10	38.3	van de Sand et al. (2008)
35	EL	reduc	7.1	144	163	153	10	156	-12	35.2*	van de Sand et al. (2008)
35	ML	0	7.0	160	160	153	7	156	4	36.3	Engelhard et al. (2013)
35	ML	reduc	7.0	145	156	153	3	156	-11	35.2	Engelhard et al. (2013)
35	ML	0	7.0	160	159	153	6	156	4	35.5	Engelhard et al. (2013)
35	ML	reduc	7.0	145	154	153	1	156	-11	35.2	Engelhard et al. (2013)

Table 1: (Continued).

Level of Milk yield (rounded)	Stadium of Lactation	Group	Concentration of NEL ^d	Concentration of CP ^e	Concentration of uCP ^f	RGuCP ^g	Δ^h RGuCP	RPCP ⁱ	Δ RPCP	Milkyield trial ^k	Reference
kg/d	EL ^a /ML ^b /ENL ^c		MJ/kg	g/kg	g/kg	$\frac{g}{uCP/kg}$	g uCP/kg	g CP/kg	g CP/kg	kg/d	
35	n.n.	0	6.9	168	161	153	8	153	15	33.4	Jilg et al. (2015)
35	n.n.	reduc	6.9	147	165	153	12	153	-6	32.3*	Jilg et al. (2015)
35	n.n.	0	6.8	166	160	153	7	153	13	33.4	Jilg et al. (2015)
35	n.n.	reduc	6.8	144	160	153	7	153	-9	32.3*	Jilg et al. (2015)
35	n.n.	0	6.8	164	159	153	6	153	11	33.4	Jilg et al. (2015)
35	n.n.	reduc	6.8	142	159	153	6	153	-11	32.3*	Jilg et al. (2015)
35	n.n.	0	7.0	164	163	153	10	153	11	33.4	Jilg et al. (2015)
35	n.n.	reduc	7.0	147	164	153	11	153	-6	32.3*	Jilg et al. (2015)
40	EL	0	7.1	163	160	160	0	158	5	44.1	Engelhard et al. (2014)
40	EL	reduc	7.1	144	153	160	-7	158	-14	41.1*	Engelhard et al. (2014)
45	EL	0	7.0	164	158	166	-8	160	4	44.4	Engelhard et al. (2016)
45	EL	reduc	7.0	151	161	166	-5	160	-9	45.0	Engelhard et al. (2016)

Notes: ^aEL, Early lactation 0 - 100 days in milk; ^bML, Mid lactation 100 - 200 days in milk; ^cENL, End of lactation 200 - 300 days in milk; ^dNEL, Net energy for lactation; ^eCP, Crude protein; ^fuCP, Utilisable crude protein; ^gRGuCP, Requirements for utilisable crude protein according to GfE (2001); ^h Δ , Difference; ⁱRPCP, Requirements for crude protein according to Pfeffer et al. (2016); ^kMilkyield trial, Milkyield in kg/day; ^l0, Controllgroup; ^mreduc, Group with reduced protein supply; *, Significant difference for milkyield (kg/day); ⁿn.n., Not named.

Table 3 lists 14 trials from eight publications. For eight of these 14 individual trials, milk yields were significantly reduced when CP was reduced (reduc). The results of the selected trials additionally show that all control (0) and reduc groups, except those in Engelhard et al. (2014, 2016), were above RGuCP and thus above customary feeding recommendations (GfE 2001). This confirms initially that up to 15 g uCP/kg DM above RGuCP were fed in these trials, even in the reduc groups. CP calculations show the reduc groups (-6 to -14 g CP/kg) to be consistently below and the control groups (4 to 11 g CP/kg) to be consistently above RPCP. The integration of the trials listed in Table 3 with RPCP suggests good applicability of RPCP tendencies for milk yield levels >30 kg/d. Considering the change between concentration of CP and RPCP (Δ RPCP) in the reduc groups additionally allows potential for reducing CP concentrations/kg DM and thus for reducing N excretions to be identified. However, this would need to be specified in targeted trials.

It should generally be noted that the original approach (Chapter 4) of deriving “*stable nitrogen balances*” is initially factually justifiable in view of the availability of comprehensive datasets and their statistical verification by means of meta-analysis (Chapter 5). Feeding recommendations for CP (and uCP) with practical relevance can be derived from this basis without necessarily having to be consistent with it. Yet the massive overestimation in the RPCP recommendations for CP in the lower performance segment of up to 30 kg/d milk yield warrant the following more detailed examination.

Overestimation of faecal nitrogen excretion

The datasets used to derive FN and UNUN have been deliberately created from heterogeneous sources (such as different species, different DMI, lactating vs. non-lactating). With increasing NI, significant effects could be calculated for FN, UN and UUN, but not for UNUN (all in g/d). It would be useful to expand the dataset to the segment <30 kg/d milk yield and to repeat the calculations in the context of the correlations outlined above. Consequently, it would need to be verified first whether the effects of increasing NI on FN, UN, UUN (and possibly also UNUN) and thus the effects in terms of RPCP are in fact independent of milk yields (and thus independent of DMI and ration digestibility). Chapter 5 indicates that FN (g/d) correlates with increasing NI (g/d) in goats, dairy cattle and fattening cattle (see also Dong et al. 2014). The conclusion that FN should be considered to be obligatory anyway is initially based on the individual data of the meta-analysis alone, where individual values >11 g FN/kg DM are almost

always based on high CP concentrations of >170 g/kg DM. Also, all of these results relate to dairy cows and are based on high energy concentrations/kg DM (see Groff and Wu 2005, for example) (all values in g/kg DM: non-fibre carbohydrates (NFC) 447 - 482, neutral detergent fibre (NDF): 279, acid detergent fibre (ADF): 209 - 215). NFC and NDF concentrations therefore indicate feeding regimes that require high portions of carbohydrates that are easily fermented in the rumen. This increases the portion of microbially available energy, which in turn can result in increased faecal MCP excretion (Rodehutsord et al. 2000). Higher faecal excretions of MCP and microbial N respectively (see also Chapter 1: Figure 1) therefore frequently correlate with increasing ration digestibility and thus increasing NI, which may be a potential cause for the effect observed. Accordingly, the extent to which FN data from trials >170 g CP/ kg DM should be taken into account would need to be discussed in the context of further derivations. Ration digestibility should additionally be taken into account to allow the energy sources that can be digested in the rumen to be quantified.

CHAPTER 7

Conclusions

This thesis has shown that RPAA supplements can have a positive effect on milk yields and milk protein contents. For the supplementation of RPMet this is particularly true for dairy cow rations with higher contents of maize silage. Additionally, the thesis finds that existing concepts for calculating AA needs are currently unable to reflect fundamental factors, including the precise quantification of the intermediary utilisation of individual AA. Several studies have confirmed that Met, for example, acts as “first limiting AA” in milk protein synthesis, depending on the ration. However, Met can also be used as a glucogenic amino acid or acts as methyl group donor in choline synthesis respectively. Additional research is required in this context to enable the various possible uses of Met to be established and calculated as precisely as possible and necessary.

The derivations for minimally required N concentrations/kg DM identified in this paper are practically applicable in view of the dataset used. The analysed approach regarding the derivation is fundamentally different from the approach to calculating net N excretions according to GfE (2001). The hypothesis that FN and UNUN are independent of NI and therefore obligatory has initially been confirmed. UN and UUN, however, are regulatory. The concluded obligatory N concentration is 16 g/kg DM. An adequate supply of uCP must be taken into account in terms of the CP feeding recommendations corresponding to these N concentrations. A meta-analysis was unable to provide unambiguous statistical verification of the hypothesised obligatory nature of FN and UNUN, and further relevant research is therefore needed. The precise quantification of microbial contribution to FN appears to constitute a core challenge in calculating “minimally required” N concentrations for dairy cows.

CHAPTER 8

Summary

The continuous improvement of the efficiency of nitrogen (N) utilisation constitutes a primary objective of livestock feeding. There is clear potential for reducing N and therefore protein, even in feeding regimes for ruminants, specifically dairy cattle, and there are clear reasons for doing so, both from an environmental and an economic perspective. However, positive ruminal N balances are not strictly necessary in any attempts to use feed protein as efficiently as possible. This thesis therefore presents approaches for enabling excess N excretions from dairy cows to be reduced without provoking negative ruminal N balances.

Practical feeding regimes for dairy cows already increasingly take into account aspects of reducing crude protein (CP) and supplementing rumen protected amino acids (RPAA). The currently used regression equations for deriving requirements of individual amino acids (AA), above all methionine and lysine, need to be refined further if the predictive accuracy of potential impacts on milk yields and milk protein synthesis following RPAA supplementation is to be improved. The accurate prediction of the intermediary utilisation of individual AA presents a core challenge for practical implementation.

The official recommendations regarding the supply of dairy cows with utilisable crude protein are based on derivations that warrant further examination in view of more recent insights. Minimally possible N concentrations/kg DM have therefore been derived based on currently available experimental data on the N metabolism in sheep, goats, cattle for fattening and dairy cattle. It is useful to differentiate between urinary non urea nitrogen (UNUN) and urinary urea nitrogen (UUN) in this context, as UNUN – in contrast to UUN – is virtually independent of N intake. Based on the available data, faecal N excretion (FN) can also be considered to be obligatory. It is concluded that 16 g N/kg DM (11 g FN + 4 g UNUN + 1 g UUN) constitutes the required minimal N concentration/kg DM. Feeding recommendations for supplying dairy cows with CP based on this formula are conditionally relevant for practice and have potential for reducing CP concentrations/kg DM, particularly during the first phase of lactation. Good practical applicability of these feeding recommendations is given from a milk yield level of >30 kg/d.

Additionally, the deductively derived hypothesis regarding obligatory FN and UNUN concentrations with increasing N intakes is verified by means of statistical meta-analysis. Dairy

cattle, fattening cattle, sheep and goats have been analysed separately for this purpose. Contrary to the hypothesis, FN correlates with increasing N intakes in goats, dairy cows ($p < 0.001$ each) and fattening cattle ($p < 0.005$). The fact that higher faecal excretions of microbial protein and microbial N respectively frequently correlate with increasing N intakes may be a potential cause for the effect observed. For UNUN, a positive correlation with increasing N intakes could only be confirmed for cattle reared for fattening ($p < 0.05$). There is a positive correlation between increasing N intakes and UUN and urine nitrogen (UN) in all ruminants ($p < 0.05$).

Based on the available dataset it was concluded that FN and UNUN must generally be assumed to be independent of N intake and therefore obligatory for the time being. UN and UUN, however, are regulatory. As the assumptions regarding UNUN and FN could not be unambiguously verified by means of statistical meta-analysis, any recalculation should specifically investigate CP concentrations in relation to the digestibility of the respective feed. Recommendations regarding the supply of dairy cows with CP that are based on conclusions should reduce the UUN and UN potential from a milk yield level of >40 kg/d. The precise quantification of the portion of microbial N on FN therefore constitutes a challenge for deriving “*minimally required*” N concentrations for dairy cows. Another challenge for future prediction and calculation models for calculating the requirements of individual AA such as methionine and lysine in dairy cows lies in the precise quantification of the various options for the metabolic utilisation of ketogenic and glucogenic AA.

CHAPTER 9

Zusammenfassung

Die stetige Verbesserung der Nutzungseffizienz von Stickstoff- (N) ist ein primäres Ziel der Tierernährung. Auch in der Fütterung von Wiederkäuern, speziell Rindern, sind deutliche Potentiale zur N- und somit Proteinreduktion gegeben. Es liegen sowohl ökologische als auch ökonomischer Beweggründe vor. Bei allen Bemühungen Futterprotein möglichst effizient einzusetzen sind jedoch negative ruminale-N-Bilanzen zu vermeiden. Demnach werden mit der vorliegenden Arbeit verschiedene Ansätze vorgestellt, um eine Reduktion überschüssiger N-Exkretionen bei der Milchkuh zu ermöglichen, ohne negative ruminale N-Bilanzen zu provozieren.

In der praktischen Fütterung von Milchkühen werden bereits zunehmend Aspekte der Reduktion von Rohprotein (CP) sowie die Supplementation pansengeschützter Aminosäuren (RPAA) berücksichtigt. Die aktuell genutzten Regressionsgleichungen zur Bedarfsableitung für einzelne Aminosäuren (AA), vorrangig Methionin und Lysin, müssen weiter präzisiert werden, um die Vorhersagegenauigkeit möglicher Effekte auf Milchleistung und Milchproteinsynthese nach RPAA-Zulage zu erhöhen. Eine bestmögliche Vorhersage über die intermediäre Verwertung einzelner AA stellt eine zentrale Herausforderung für die praktische Umsetzung dar.

Aktuell vorliegende Empfehlungen zur Versorgung der Milchkühe mit CP bzw. nutzbarem CP am Duodenum basieren auf Ableitungen, die nach heutigem Kenntnisstand diskussionswürdig sind. Somit werden auf Basis aktuell verfügbarer, experimentell ermittelter Daten zum N-Umsatz bei Schafen, Ziegen, Mastrindern und Milchkühen minimal erforderliche N-Konzentrationen/kg DM abgeleitet. Eine Differenzierung zwischen Nicht-Harnstoff-N im Harn (UNUN) und Harnstoff-N im Harn (UUN) ist zielführend, da UNUN im Gegensatz zu UUN nahezu unabhängig von der N-Aufnahme ist. Zudem kann auf Basis der vorliegenden Daten die Kot-N-Ausscheidung (FN) ebenso als obligat angesehen werden. 16 g N/kg DM (11 g FN + 4 g UNUN + 1 g UUN) werden als notwendige minimale N-Konzentration/kg DM geschlussfolgert. Darauf basierende Versorgungsempfehlungen zur CP-Versorgung der Milchkühe zeigen eine bedingte Praxisrelevanz bzw. ein Potential zur Reduktion der CP-Konzentrationen/kg DM besonders im ersten Laktationsabschnitt. Eine gute praktische

Anwendbarkeit dieser Versorgungsempfehlungen ist ab einem Milchleistungsniveau von >30 kg/d gegeben.

Zudem wurde die deduktiv abgeleitete Hypothese obligater FN- und UNUN-Konzentrationen bei steigenden N-Aufnahmen einer statistischen Überprüfung mittels Metaanalyse unterzogen. Milchkühe, Mastrinder, Schafe und Ziegen wurden hierbei separat betrachtet. Abweichend zur Hypothese korreliert FN mit steigenden N-Aufnahme bei Ziegen, Milchkühen (jeweils $p < 0,001$) und Mastrindern ($p < 0,005$). Dass höhere Ausscheidungen von mikrobiellem Protein bzw. mikrobiellem N über den Kot oftmals mit steigender N-Aufnahme korrelieren, kann eine mögliche Ursache für diesen Effekt sein. Für UNUN konnte lediglich eine positive Korrelation zu steigenden N-Aufnahmen bei Mastrindern abgesichert werden ($p < 0,05$). UUN und Harnstickstoff (UN) korrelieren über alle Wiederkäuer positiv bei steigender N-Aufnahme ($p < 0,05$).

Anhand des vorliegenden Datensatzes sind FN und UNUN zunächst prinzipiell von der N-Aufnahme als unabhängig und somit obligat anzunehmen. UN und UUN sind hingegen regulativ. Aufgrund der nicht eindeutigen statistischen Absicherung der Annahmen zu UNUN und FN mittels Metaanalyse sollte bei erneuter Kalkulation eine gezielte Betrachtung von CP-Konzentration in Abhängigkeit von den Verdaulichkeiten der jeweiligen Futtermittel erfolgen. Abgeleitete Empfehlungen zur Versorgung der Milchkuh mit CP haben ab einem Milchleistungsniveau >40 kg/d das Potential UUN und UN zu vermindern. Die genaue Quantifizierung des Anteils an N mikrobiellen Ursprungs am FN ist somit eine Herausforderung zur Herleitung „*minimal notwendiger*“ N-Konzentrationen für Milchkühe. Zudem ist eine möglichst genaue Quantifizierung der verschiedenen stoffwechselfeitigen Nutzungsoptionen für ketogene und glucogene AA die Herausforderung für zukünftige Vorhersage- und Berechnungsmodelle zur Kalkulation des Bedarfs der Milchkuh an einzelnen AA wie z.B. Methionin und Lysin.

REFERENCES

(cited in chapter 1, 6, 7, 8 and 9)

Al-Kindi, A., Dickhoefer, U., Schlecht, E., Sundrum, A., Schiborra, A., 2016. Effects of quebracho tannin extract (*Schinopsis balansae Engl.*) and activated charcoal on nitrogen balance, rumen microbial protein synthesis and faecal composition of growing Boer goats. *Arch. Anim. Nutr.* 70: 307 - 321.

Arriola Apelo, S. I., Bell, A. L., Estes, K., Ropelewski, J., de Veth, M. J., Hanigan, M. D., 2014 a. Effects of reduced dietary protein and supplemental rumen-protected essential amino acids on the nitrogen efficiency of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97: 5688 - 5699.

Arriola Apelo, S. I., Knapp, J. R., Hanigan, M. D., 2014 b. Invited review: Current representation and future trends of predicting amino acids utilization in the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 97: 4000 - 4017.

Awawdeh, M. S., 2016. Rumen-protected methionine and lysine: effects on milk production and plasma amino acids of dairy cows with reference to metabolisable protein status. *J. Dairy Res.* 83: 151 - 155.

BMEL [Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft] 2016. Verordnungsentwurf des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft. Verordnung zur Neuordnung der guten fachlichen Praxis beim Düngen. http://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Service/Rechtsgrundlagen/Entwuerfe/EntwurfDuengeverordnung.pdf;jsessionid=0C1BAB7DAF5717E5F64BBF430474F39C.2_cid376?__blob=publicationFile. 10.06.2016.

Burgos, S. A., Fadel, J. G., DePeters, E. J., 2007. Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: Relation of milk urea nitrogen to urine urea nitrogen excretion. *J. Dairy Sci.* 90: 5499 - 5508.

Butler, W. R., Calaman, J. J., Beam, S. W., 1995. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 74: 858 - 865.

Butler, W. R., 1998. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81: 2533 - 2539.

Clark, J. H., Klusmeyer, T. H., Cameron, M. R., 1992. Symposium: Nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75: 2304 - 2323.

References

- de Kruif, A., Mansfeld, R., Hoedemaker, M., 2007. Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind. Enke Verlag, Stuttgart, Germany.
- Dong, R. L., Zhao, G. Y., Chai, L. L., Beauchemin, K. A., 2014. Prediction of urinary and fecal nitrogen excretion by beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92: 4669 - 4681.
- Engelhard, T., Helm, L., Riemann, E., Andert, A., Zarwel, H., 2013. Versuchsbericht: Effekte der Reduzierung des Futterproteinangebotes für Milchkühe in der zweiten Laktationshälfte auf die Futteraufnahmen der Tiere sowie auf deren Leistungen und N-Ausscheidungen mit den Exkrementen. Fachinformationen der Landesanstalt für Landwirtschaft. Forsten und Gartenbau. August 2013. http://www.llg.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik_und_Verwaltung/MLU/LLFG/Dokumente/abt3_tierhaltung/infothek/id_D32_1309_proteinreduzi erung.pdf. 02.10.2016.
- Engelhard, T., Meyer, A., Bulang, M., Richardt, W., Staufenbiel, R., 2014. Effekte der Reduzierung der Proteingehalte in Rationen für Milchkühe mit hoher Leistung. Tagungsunterlage Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung. 01./02.04.2014. Fulda, Germany, 79 - 82.
- Engelhard, T., Meyer, A., Bulang, M., Steingäß, H., Richardt, W., 2016. Auswirkung der Fütterung von Rationen mit unterschiedlichen Gehalten an Rohprotein, UDP und nXP an Milchkühe im ersten Laktationsdrittel. Tagungsunterlage Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung. 12./13.04.2016. Fulda, Germany, 105 - 108.
- Ettle, T., Obermaier, A., Spiekers, H., 2010. Effects of varying ruminal N-balance (RNB) on performance of dairy cows. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 19: 29.
- EU Parlament, 1991. RICHTLINIE DES RATES vom 12. Dezember 1991 zum Schutz der Gewässer vor Verunreinigung durch Nitrat aus landwirtschaftlichen Quellen (91/676/EWG). Amtsblatt L 375 vom 31.12.1991. 1 - 12.
- EU Parlament, 2001. RICHTLINIE 2001/81/EG DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 23. Oktober 2001 über nationale Emissionshöchstmengen für bestimmte Luftschadstoffe. Amtsblatt L 309 vom 27.11.2001. 22 - 30.
- Flachowsky, G., 2004. Beiträge der Tierernährung zur Nährstoffökonomie bei der Milcherzeugung mit gesunden Kühen. *Züchtungskunde.* 76: 432 - 448.

References

- Fox, D. G., Tedeschi, L. O., Tylutki, T. P., Russell, J. B., Van Amburgh, M. E., Chase, L. E., Pell, A. N., Overton, T. R., 2004. The Cornell Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 112: 29 - 78.
- GfE [Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie], 2001. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere. Nr. 8. Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany.
- Groff, E. B., Wu, Z., 2005. Milk production and nitrogen excretion of dairy cows fed different amounts of protein and varying proportions of alfalfa and corn silage. *J. Dairy Sci.* 88: 3619 - 3632.
- Guliński, p., Salamończyk, E., Mlynek, K., 2016. Improving nitrogen use efficiency of dairy cows in relation to urea in milk – a review. *Animal Science Papers and Reports.* 34: 5 - 24.
- Iburg, M., 1993. Untersuchungen über den Bedarf laktierender Milchkühe an einzelnen Aminosäuren. Inaug.-Diss., Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Braunschweig-Völkenrode.
- Jilg, T., 2014. Auswirkung einer reduzierten Rohproteinversorgung von Milchkühen auf Futteraufnahme, Milchleistung und Wirtschaftlichkeit. Tagungsunterlage Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung. 01./02.04.2014. Fulda, Germany, 83 - 86.
- Jilg, T., Riemann, S., Steingäß, H., Rodehutschord, M., 2015. Rohprotein-reduzierte Fütterung von Milchkühen unter Einsatz von Rapsextraktionsschrot mit erhöhtem UDP-Anteil. Tagungsunterlage Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung. 14./15.04.2015. Fulda, Germany, 98 - 101.
- Kauffmann, 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.
- Kehraus, S., Südekum, K.-H., Pfeffer, E., 2006. Einflussfaktoren auf die Ausscheidung N-haltiger Verbindungen im Harn von Wiederkäuern. *Übers. Tierernährg.* 34: 125 - 164.
- Kohn, R. A., Kalscheur, K. F., Russek-Cohen, E., 2002. Evaluation of models to estimate urinary nitrogen and expected milk urea nitrogen. *J. Dairy Sci.* 85: 227 - 233.
- Lapierre, H., Pacheco, D., Berthiaume, R., Ouellet, D. R., Schwab, C. G., Dubreuil, P., Holtrop, G., Lobley, G. E., 2006. What is the true supply of amino acids for dairy cows? *J. Dairy Sci.* 89: E1 - E14.

References

- Larson, S. F., Butler, W. R., Currie, W. B., 1996. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 80: 1288 - 1295.
- Leonardi, C., Stevenson, M., Armentano, L. E., 2003. Effect of two levels of crude protein and methionine supplementation on performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 4033 - 4042.
- Lobley, G. E., Connell, A., Revell, D., 1996. The importance of transmethylation reactions to methionine metabolism in sheep: effects of supplementation with creatine and choline. *Brit. J. Nutr.* 75: 47 - 56.
- Maas, J. A., France, J., Dijkstra, J., Bannink, A., McBride, B. W., 1998. Application of a mechanistic model to study competitive inhibition of amino acid uptake by the lactating bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 81: 1724 - 1734.
- Matthé, A., Lebzien, P., Flachowsky, G., 2000. Zur Bedeutung von Bypass-Stärke für die Glucoseversorgung von hochleistenden Milchkühen. *Übers. Tierernährg.* 28: 1 - 64.
- Melendez, P., Donovan, A., Hernandez, J., 1999. Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 83: 459 - 463.
- Mutsvangwa, T., Davies, K. L., McKinnon, J. J., Christensen, D. A., 2016. Effects of dietary crude protein and rumen-degradable protein concentrations on urea recycling, nitrogen balance, omasal nutrient flow, and milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99: 6298 - 6310.
- Pfeffer, E., Schuba, J., Südekum, K.-H., 2016. Nitrogen supply in cattle coupled with appropriate supply of utilisable crude protein at the duodenum, a precursor to metabolisable protein. *Arch. Anim. Nutr.* 70: 293 - 306.
- Rodehutsord, M., Heuvers, H., Pfeffer, E., 2000. Effect of organic matter digestibility on obligatory faecal phosphorus loss in lactating goats, determined from balanced data. *Anim. Sci.* 70: 561 - 568.
- Rhoads, M. L., Rhoads, R. P., Gilbert, R. O., Toole, R., Butler, W. R., 2006. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactation dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 91: 1 - 10.
- Rohr, K., Lebzien, P., 1991. Present knowledge of amino acid requirements for maintenance and production. In: Eggum, B. O. et al. (Eds.), *Proc. 6th Int. Symp. Protein Metabolism and Nutrition*, Denmark. EAAP-Publ. 59: 127 - 137.

References

- Santos, P., Marques, A., Antunes, G., Chaveiro, A., Andrade, A., Borba, A., Moreira da Silva, F., 2009. Effects of plasma urea nitrogen levels on the bovine oocyte ability to develop after in vitro fertilization. *Reprod. Dom. Anim.* 44: 783 - 787.
- Schröder, A., 2010: Steigerung der Effizienz der Stickstoffverwertung von Milchviehrationen durch Balanzierung der Aminosäuren. Tagungsunterlage Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung. 24./25.03.2010. Fulda, Germany, 36 - 39.
- Schröder, A., Bennett, R., Rulquin, H., 2008. Rationsgestaltung mit Aminosäuren: Das nXAA-System – eine Erweiterung des nXP-Systems. *VDLUFA-Schriftenreihe* 64: 305 - 312.
- Socha, M. T., Putnam, D. E., Garthwaite, B. D., Whitehouse, N. L., Kierstead, N. A., Schwab, C. G., Ducharme, G. A., Robert, J. C., 2005. Improving intestinal amino acid supply of pre- and postpartum dairy cows with rumen-protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 88: 1113 - 1126.
- Südekum, K.-H., 2002. Grundlagen internationaler Futterbewertungssysteme für Milchkühe und Perspektiven für die deutschen Empfehlungen (Energie, Protein, Aminosäuren). *Übers. Tierernährg.* 30: 135 - 162.
- Ulbrich, M., Hoffmann, M., Drochner, W., 2004. *Fütterung und Tiergesundheit*. Ulmer Verlag, Stuttgart, Germany.
- van de Sand, H., Pries, M., Spiekers, H., Südekum, K.-H., 2006. Einfluss unterschiedlicher ruminaler Stickstoffbilanzen auf die Effizienz der Nährstoffverwertung und Leistungsmerkmale bei Milchkühen. Kurzfassung der Referate 118. *VDLUFA-Kongress*. Freiburg, Germany, 97.
- van de Sand, H., Hünting, K., Pries, M., Südekum, K.-H., 2008. Auswirkung einer unterschiedlichen RNB-Versorgung auf Leistungsparameter in der Früh lactation. Tagungsunterlage Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung. 09./10.04.2008. Fulda, Germany, 45 - 48.
- van Soest, P. J., 1994. *Nutritional ecology of the ruminants*. „2nd ed. Ithaca. NY: Cornell University Press.
- Zanton, G. I., Bowman, G. R., Vázquez-Anón, M., Rode, L. M., 2014. Meta-analysis of lactation performance in dairy cows receiving supplemental dietary methionine sources or post-ruminal infusion of methionine. *J. Dairy Sci.* 97: 7085 - 7101

APPENDIX

Table 1: N-excretion in ruminants related to dry matter intake (References cited in Chapter 4 and Chapter 5: “Appendix”)

Species	Reference	DMI ^a	CP ^b - Level	Feed-N		Faecal-N		
		kg/d	% DM	g/d	g/kg DM	g/d	g/kg DM	
goats	de la Torre et al. 2008	1.8	13.6	31.0	17.2	8.9	4.9	
		1.8	17.7	34.3	19.1	9.5	5.3	
		1.8	17.7	42.3	23.5	11.7	6.5	
	Molina-Alcaide et al. 2010	1.8	13.6	43.9	24.4	12.0	6.6	
		1.4	15.9	36.1	25.7	10.3	7.4	
		1.3	16.4	34.3	26.5	9.9	7.7	
		1.4	17.1	37.9	27.6	11.9	8.7	
	Cox 2013	0.6	8.3	8.0	13.3	2.6	4.2	
		0.6	7.7	7.2	12.3	3.5	5.9	
		0.6	7.5	7.5	12.1	3.7	6.0	
		0.6	12.4	11.6	19.8	3.8	6.5	
		0.7	12.5	14.1	20.0	4.6	6.6	
		0.6	17.8	18.4	28.4	4.4	6.8	
	sheep	Nolan and Leng 1972	0.6	17.8	18.0	28.5	4.4	7.0
			0.6	18.2	18.3	29.1	5.3	8.5
0.7			20.7	22.5	33.1	4.7	8.5	
0.7			20.7	22.5	33.1	4.7	8.5	
0.7			21.1	23.0	33.8	4.7	8.5	
0.7			21.1	23.0	33.8	4.7	8.5	
Prior 1976		0.7	23.1	25.1	36.9	4.7	8.5	
		0.7	23.1	25.1	36.9	4.7	8.5	
		1.1	13.0	23.1	21.4	6.0	5.6	
		1.2	13.4	25.6	21.3	6.9	5.8	
		1.1	13.0	25.0	22.3	7.1	6.3	
		1.0	13.4	23.2	22.3	6.8	6.5	
Nolan et al. 1976		1.1	13.4	24.8	22.3	7.3	6.6	
		1.2	13.0	25.8	22.2	8.9	7.7	
		1.1	13.4	23.0	21.3	8.7	8.1	
	0.8	13.0	14.4	19.2	6.9	9.2		
	0.5	18.7	13.7	29.9	4.1	8.9		
	0.6	20.8	19.6	33.3	6.5	11.1		
Bunting et al. 1987	0.5	18.6	15.6	29.8	5.9	11.3		
	0.9	15.4	21.2	18.2	5.3	6.2		
van der Veen et al. 1989	0.9	8.7	12.0	10.3	6.1	7.1		
	0.9	11.9	16.9	19.0	6.1	6.9		
Lobley et al. 2000	0.9	11.9	16.8	19.0	6.6	7.5		
	0.9	5.6	17.1	19.7	5.6	6.5		
Kiran and Mutsvangwa 2009	0.8	13.4	14.3	17.2	6.8	8.2		
	2.2	10.3	36.6	16.3	8.9	4.0		
	1.8	15.6	45.3	25.0	9.1	5.0		
	1.7	10.3	27.4	16.6	8.7	5.3		
		1.7	15.6	41.8	24.9	10.9	6.5	

Appendix

Table 1: (Continued).

Species	Reference	DMI ^a	CP ^b - Level	Feed-N		Faecal-N			
		kg/d	% DM	g/d	g/kg DM	g/d	g/kg DM		
heifers	Marini and van Amburgh 2003	10.8	5.1	87.6	14.6	46.3	4.3		
		10.8	8.5	147.5	25.0	49.2	4.6		
		10.8	6.4	110.4	19.0	49.6	4.6		
		10.8	11.8	203.5	33.9	50.3	4.7		
		10.8	10.3	178.7	29.8	52.0	4.8		
		6.0	5.1	87.6	14.7	46.3	7.8		
		5.9	8.5	147.5	24.8	49.2	8.3		
		5.9	6.4	110.4	18.5	49.6	8.3		
		5.9	11.8	203.5	34.2	50.3	8.4		
		6.0	10.3	178.7	30.0	52.0	8.7		
		4.0	14.0	91.8	23.0	21.1	5.3		
		3.9	13.9	92.7	23.8	23.0	5.9		
		beef	Eisemann et al. 1989	6.8	12.7	147.2	21.6	55.9	8.2
				6.8	12.7	144.5	21.3	56.9	8.4
Wessels and Titgemeyer 1997	4.7		13.5	104.8	22.3	27.3	5.8		
	4.8		15.3	112.9	23.7	28.9	6.1		
	4.7		17.1	118.0	24.9	29.3	6.2		
	4.8		15.4	113.6	23.7	30.3	6.3		
	4.7		17.2	118.2	25.0	30.1	6.4		
	4.7		13.5	105.0	22.3	30.6	6.5		
6.8	15.5		167.0	24.6	53.0	7.8			
4.7	7.6		57.3	12.2	25.6	5.4			
4.0	7.6		48.0	12.2	23.8	6.0			
4.7	11.2		84.4	17.9	29.0	6.2			
4.7	9.4		70.8	15.0	29.8	6.3			
4.0	9.4		59.4	15.0	25.1	6.4			
4.0	11.2	70.8	17.9	25.4	6.4				
4.0	13.0	82.2	20.8	26.9	6.8				
dairy	Mugerwa and Conrad 1971	4.7	13.0	98.0	20.8	32.7	6.9		
		12.2	10.8	173.0	14.2	78.0	6.4		
		10.7	16.1	257.0	24.1	70.0	6.6		
		8.3	11.6	186.0	22.4	55.0	6.6		
		12.0	14.6	233.0	19.4	80.0	6.7		
		12.3	20.5	328.0	26.7	85.0	6.9		
		13.2	16.9	270.0	20.4	93.0	7.0		
		7.2	14.5	232.0	32.0	51.0	7.0		
		11.4	19.3	309.0	27.0	82.0	7.2		
		10.1	19.2	307.0	30.4	82.0	8.1		
		Röhrmoser and Kirchgeßner 1982	13.9	15.7	350.0	25.1	145.0	10.4	
			11.8	17.4	330.0	27.9	126.0	10.7	
			13.9	15.7	350.0	25.1	149.0	10.7	
			11.8	17.4	330.0	27.9	146.0	12.3	
Röhrmoser et al. 1984	13.0	14.4	299.0	23.0	131.0	10.1			
	13.2	14.5	307.0	23.3	134.0	10.2			
	13.3	14.5	308.0	23.2	136.0	10.2			
	13.2	12.0	254.0	19.2	136.0	10.3			
	13.0	14.4	299.0	23.0	134.0	10.3			
	13.3	14.5	308.0	23.2	138.0	10.4			
Kreuzer und Kirchgeßner 1985	13.9	14.4	320.0	23.1	131.3	9.5			
	13.7	14.4	317.3	23.1	131.4	9.6			

Appendix

Table 1: (Continued).

Species	Reference	DMI ^a	CP ^b - Level	Feed-N		Faecal-N	
		kg/d	% DM	g/d	g/kg DM	g/d	g/kg DM
		14.5	14.6	337.3	23.3	141.5	9.8
		13.7	14.5	318.7	23.2	136.1	9.9
		14.3	14.5	333.4	23.3	142.4	9.9
		14.0	11.6	259.7	18.5	139.5	10.0
		15.0	14.7	252.8	16.8	151.1	10.1
		14.9	17.1	406.2	27.3	150.0	10.1
		14.9	17.2	410.1	27.5	154.8	10.4
	Kaufmann und Kirchgeßner 1987	15.9	12.4	315.4	19.9	138.0	8.7
		14.1	14.0	318.3	22.5	123.6	8.7
		14.2	14.1	324.0	22.8	124.9	8.8
		13.9	13.9	309.7	22.3	123.6	8.9
		16.5	12.9	338.9	20.6	148.2	9.0
		15.1	14.6	352.6	23.4	136.2	9.0
		15.0	14.2	342.5	22.9	135.5	9.1
		15.2	14.4	350.9	23.1	138.7	9.1
	Susmel et al. 1995	14.5	12.7	295.4	20.3	109.0	7.5
		14.2	9.4	213.9	15.1	107.0	7.5
	Lebzien et al. 1995	19.9	16.8	486.0	24.4	152.0	7.6
		19.9	14.5	419.0	21.1	157.0	7.9
		19.5	15.2	438.0	22.5	159.0	8.2
	Putnam and Varga 1998	10.5	12.7	212.9	20.3	81.3	7.7
		11.0	10.6	187.5	17.1	85.2	7.8
		11.1	14.5	258.9	23.3	91.8	8.3
	Kebreab et al. 2000	16.5	18.3	483.0	29.3	132.0	8.0
		17.3	17.6	488.0	28.2	142.0	8.2
		16.9	18.2	492.0	29.2	140.0	8.3
		17.2	18.2	501.0	29.1	147.0	8.5
		15.4	14.0	345.0	22.4	133.0	8.6
		17.7	16.5	467.0	26.4	157.0	8.9
		15.6	15.5	387.0	24.8	140.0	9.0
		17.4	17.2	476.0	27.4	161.0	9.3
		15.4	16.1	395.0	25.7	143.0	9.3
		17.1	19.1	520.0	30.5	160.0	9.4
		17.3	16.6	459.0	26.6	163.0	9.4
		15.8	15.0	378.0	24.0	149.0	9.5
		17.3	16.7	462.0	26.7	164.0	9.5
		16.3	15.7	409.0	25.1	157.0	9.6
		17.8	28.5	528.0	29.6	173.0	9.7
		17.8	18.5	528.0	29.6	173.0	9.7
		17.1	17.7	482.0	28.3	167.0	9.8
	Castillo et al. 2001a	16.1	15.4	354.0	22.0	112.2	7.0
		16.2	16.3	369.0	22.8	125.5	7.7
		16.0	13.9	341.0	21.3	136.4	8.5
	Knowlton et al. 2001	20.9	16.1	558.2	38.9	178.4	8.5
		23.5	16.3	626.5	28.3	208.3	8.9
		20.6	15.9	542.1	35.9	192.8	9.4
		22.5	16.0	571.4	34.9	214.9	9.6
	Haig et al. 2002	20.0	17.8	571.2	28.4	186.9	9.4
		22.2	17.7	629.4	28.4	233.7	10.5
		20.8	17.6	587.8	28.4	221.3	10.6

Appendix

Table 1: (Continued).

Species	Reference	DMI ^a	CP ^b - Level	Feed-N		Faecal-N	
		kg/d	% DM	g/d	g/kg DM	g/d	g/kg DM
Galo et al. 2003		23.1	16.4	614.8	26.6	197.3	8.5
		23.6	18.1	687.9	29.2	209.9	8.9
		23.6	17.9	683.4	29.0	231.2	9.8
Noftsker and St-Pierre 2003		24.6	16.9	682.0	27.7	257.0	10.5
		25.6	18.6	770.0	30.1	279.0	10.9
		24.1	16.9	679.0	28.2	263.0	10.9
		24.4	18.5	735.0	30.1	271.0	11.1
Ruppert et al. 2003		22.6	17.6	646.0	28.6	180.0	8.0
		23.6	18.0	684.0	28.9	192.0	8.1
		21.4	17.6	608.0	28.4	175.0	8.2
		21.4	17.5	604.0	28.2	176.0	8.2
		24.8	17.6	699.0	28.2	212.0	8.6
Wright et al. 2003		22.9	18.1	666.0	29.1	205.0	9.0
		14.3	25.1	506.0	35.4	97.0	6.8
		15.5	11.3	272.0	17.6	115.0	7.4
		16.0	11.1	301.0	18.8	123.0	7.7
		14.5	16.1	363.0	25.0	112.0	7.7
		14.2	15.2	391.0	27.5	123.0	8.7
Mulligan et al. 2004		13.8	23.1	564.0	40.9	143.0	10.4
		16.2	19.3	499.0	30.8	132.0	8.1
		18.9	20.4	618.0	32.7	154.0	8.1
		18.4	16.4	482.0	26.2	154.0	8.4
		19.2	20.2	620.0	32.3	181.0	9.4
Wattiaux and Karg 2004		19.8	19.9	632.0	31.9	193.0	9.7
		22.2	17.3	616.0	27.8	150.0	6.8
		23.7	16.4	620.0	26.2	177.0	7.5
		24.8	16.5	656.0	26.5	205.0	8.3
Flis and Wattiaux 2005		25.3	18.0	729.0	28.8	220.0	8.7
		23.6	18.7	712.0	30.2	208.0	8.8
		21.1	17.6	596.0	28.3	190.0	9.0
Gressley and Armentano 2005		22.7	17.0	618.0	27.2	209.0	9.2
		24.4	18.0	707.0	28.9	232.0	9.5
		22.2	17.3	615.0	27.7	209.0	9.4
		23.1	16.7	616.0	26.7	231.0	10.0
		25.0	16.6	665.0	26.6	279.0	11.2
Groff and Wu 2005		25.0	16.2	647.0	25.9	287.0	11.5
		24.8	16.2	643.0	25.9	301.0	12.1
		24.2	16.1	623.0	25.7	325.0	13.4
		25.7	18.8	809.0	31.5	224.0	8.7
		26.4	16.3	723.0	27.4	238.0	9.0
		25.9	17.5	763.0	29.5	240.0	9.3
		24.2	15.0	614.0	25.4	229.0	9.5
		24.7	16.3	671.0	27.2	259.0	10.5
		24.9	18.8	751.0	30.2	264.0	10.6
		25.8	15.0	676.0	26.2	283.0	11.0
	23.9	17.5	684.0	28.6	273.0	11.4	
	23.3	16.3	658.0	28.2	270.0	11.6	
	22.9	15.0	610.0	26.6	269.0	11.7	
	22.6	17.5	684.0	30.3	285.0	12.6	
	30.2	17.5	800.0	26.5	386.0	12.8	

Appendix

Table 1: (Continued).

Species	Reference	DMI ^a	CP ^b - Level	Feed-N		Faecal-N	
		kg/d	% DM	g/d	g/kg DM	g/d	g/kg DM
		28.7	15.0	669.0	23.3	369.0	12.9
		29.3	18.8	827.0	28.2	382.0	13.0
		27.9	16.3	712.0	25.5	370.0	13.3
		23.2	18.8	738.0	31.8	323.0	13.9
	Olmos Colmenero and Broderick 2005	22.2	15.0	531.0	23.9	176.0	7.9
		23.0	16.5	605.0	26.3	196.0	8.5
		22.3	13.5	483.0	21.7	196.0	8.8
		22.3	19.9	641.0	28.7	197.0	8.8
		22.9	19.4	711.0	31.0	210.0	9.2
	Petit et al. 2005	20.8	18.4	661.0	31.8	181.0	8.7
		19.3	15.7	498.0	25.8	198.0	10.3
		19.5	18.3	596.0	30.6	212.0	10.9
		17.5	16.2	434.0	24.8	209.0	11.9
	Reynal and Broderick 2005	22.4	17.2	619.0	28.5	197.0	8.8
		24.4	17.7	690.0	27.2	219.0	9.0
		23.7	18.3	701.0	26.8	220.0	9.3
		23.6	18.8	715.0	24.4	222.0	9.4
	Brito and Broderick 2006	23.7	16.2	617.0	27.8	211.0	8.9
		25.4	16.6	675.0	27.1	230.0	9.1
		26.5	16.9	719.0	26.6	263.0	9.9
		26.8	17.2	744.0	26.0	275.0	10.3
	Foley et al. 2006	21.0	17.3	580.0	27.6	208.0	9.9
		20.4	16.4	535.0	26.2	204.0	10.0
		20.4	17.8	581.0	28.5	219.0	10.7
	Gozho and Mutsvangwa 2008	25.2	17.3	686.0	27.2	207.0	8.2
		26.2	17.6	727.0	27.8	246.0	9.4
		26.0	17.5	723.0	27.8	266.0	10.2
		24.0	17.4	669.0	27.9	251.0	10.5
	Gozho et al. 2008	20.5	17.0	539.5	26.3	116.2	5.7
		21.1	17.3	583.1	27.6	132.4	6.3
		22.3	17.4	622.9	27.9	159.8	7.2
		23.8	17.2	653.2	27.5	196.9	8.3
	Pfeffer et al. 2009a	18.7	15.6	468.0	25.0	144.0	7.7
		18.8	12.7	383.0	20.4	149.0	7.9
	Knowlton et al. 2010	15.8	17.7	447.0	28.3	162.0	10.3
		22.4	17.7	631.0	28.2	243.0	10.9
	Cheng et al. 2011	19.0	15.9	473.0	24.9	148.0	7.8
		17.1	13.4	359.0	21.0	139.0	8.1
		17.2	13.0	379.0	22.0	141.0	8.2
		17.8	16.0	464.0	26.1	149.0	8.4
		19.1	16.9	512.0	26.8	166.0	8.7
		17.4	19.8	547.0	31.4	163.0	9.4
		14.9	20.7	494.0	33.2	151.0	10.1
		18.2	21.4	626.0	34.4	193.0	10.6
		16.3	23.1	605.0	37.1	175.0	10.7
	Fanchone et al. 2012	20.0	11.0	352.0	18.0	149.0	7.5
		20.3	11.1	360.0	17.3	157.0	7.7

Appendix

Table 1: (Continued).

Species	Reference	DMI ^a	CP ^b - Level	Feed-N		Faecal-N	
		kg/d	% DM	g/d	g/kg DM	g/d	g/kg DM
		19.9	14.2	453.0	18.1	155.0	7.8
		20.4	14.4	471.0	22.2	168.0	8.2

Notes: ^aDMI, Dry matter intake (kg/day); ^bCP, Crude protein.

CURRICULUM VITAE

Jan Schuba

Born on the 15th of December, 1981, Bonn, Germany

- | | |
|-------------------|--|
| 08/1992 – 06/2001 | Franken Gymnasium, Zülpich, Germany
Degree: Abitur |
| 07/2001 – 04/2002 | Alternative Civilian Service - Fachklinik Marienborn gGmbH,
Zülpich-Hoven, Germany |
| 10/2002 – 07/2003 | Study of Geography at the Friedrich-Wilhelms-University of
Bonn, Germany |
| 09/2003 – 07/2005 | Berufskolleg Rhein-Sieg-Kreis, Bonn, Germany
Landschaftsverband Rheinland LVR, Mechernich, Germany
Zuchtbetrieb Helmut Dahmen, Mechernich, Germany
Hauptsaatn Seed & Service GmbH, Cologne, Germany
Degree: Farmer |
| 10/2005 - 07/2008 | Study of Agriculture at the University of Applied Sciences of Bingen,
Germany
Degree: Dipl.-Ing. agr. (FH) |
| 08/2008 - 02/2010 | Sales Manager Feedstuff - Raiffeisen Waren-Zentrale Rhein-Main
eG, Cologne, Germany |
| 02/2010 – 04/2014 | Product Manager Ruminants - Deutsche Tiernahrung Cremer
GmbH & Co KG, Düsseldorf, Germany |
| Since 04/2014 | Senior Key Account Manager Ruminants - Elanco Deutschland
GmbH, Bad Homburg, Germany |

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit versichere ich eidesstattlich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

I declare under penalty of perjury that this thesis is my own work entirely and has been written without any help from other people. I used only the sources mentioned and included all the citations correctly both in word or content.

.....

Ort, Datum/ *Place, Date*

.....

Antragsteller / *applicant*

DANKSAGUNG

Ich möchte mich ganz herzlich bei allen bedanken, die zum Entstehen und Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Zunächst möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Annette Zeyner für die Überlassung des Themas, die Übernahme des ersten Gutachtens, die zahlreichen Hilfestellungen und die angenehme Zusammenarbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. Karl-Heinz Südekum danke ich für die Übernahme des zweiten Gutachtens und die fachliche Betreuung der Arbeit, zudem ganz besonders für die vielen konstruktiven Gespräche in Bonn, die stets vorhandene Hilfs- und Diskussionsbereitschaft, die Geduld sowie manchmal ermutigenden Worte! Ich habe die Zusammenarbeit immer als sehr angenehm und zielführend empfunden.

Besonderer Dank posthum auch an Herrn Prof. Dr. Ernst Pfeffer. Er hat durch seine wertvollen, richtungsweisenden Anmerkungen und Präzisierungen, aber vor allem durch seinen reichhaltigen Erfahrungsschatz zur Thematik zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Besten Dank auch an Herrn Dr. Muhammad Qaiser Riaz und Herrn Dr. Anuraga Jayanegara. Vielen Dank für Eure Unterstützung und Diskussionsbereitschaft bei der Erstellung der Meta-Analyse.

Von ganzem Herzen danke ich zudem Annika und meiner Familie. Annika hat mich immer wieder ermutigt, unterstützt und mir Freiräume für dieses Projekt gegeben. Danke dafür!