

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Schlussbericht zum Thema

“Untersuchungen zur Verbesserung ernährungsphysiologischer Eigenschaften von Ackerbohnen und Erbsen für Milchrinder durch kombinierte gärbilogische und thermische Behandlung“

FKZ: 2815EPS058

Projektnehmer:

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen der BMEL Eiweißpflanzenstrategie.

Schlussbericht

Zuwendungsempfänger:

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Professur für Tierernährung

Förderkennzeichen:

2815EPS058

Vorhabenbezeichnung:

Untersuchungen zur Verbesserung ernährungsphysiologischer Eigenschaften von Ackerbohnen und Erbsen für Milchrinder durch kombinierte gärbiologische und thermische Behandlungen

Akronym: SilaToast

Laufzeit des Vorhabens:

01.01.2017 – 30.06.2021

Berichtszeitraum:

01.01.2017 – 30.06.2021

Projektbearbeitung:

Prof. Dr. Annette Zeyner, Dr. Martin Bachmann, M. Sc. Paul Okon

Zusammenfassung

Das vorliegende Projekt wurde mit dem Ziel durchgeführt, einen wissenschaftlichen Beitrag zu leisten, die Attraktivität von Erbsen und Ackerbohnen als Proteinkonzentrat (Körner) oder als protein-, stärke- und faserreiche Futterkomponente (Teil- oder Ganzpflanze) für die Wiederkäuerfütterung zu steigern. Dabei sind neben der pflanzenbaulichen Ertrags- und Ernteoportimierung praxisrelevante Verfahren zur Steigerung der ruminalen Beständigkeit des Futterproteins und der Stärke erfolgsentscheidende Faktoren. Im Projekt wurde geprüft, inwieweit sich der Futterwert von Erbsen und Ackerbohnen – sowohl als Korn, Teil- oder Ganzpflanze, sowie zu unterschiedlichen Reifestadien – durch Silierung und anschließende Wärmebehandlung erhöhen lässt, ohne nennenswerte Schädigungen wertbestimmender Nährstoffe zu provozieren. Dabei sollten insbesondere das Reifestadium, die Silierparameter und Temperaturführung optimiert werden.

Neben einer Vielzahl von Modellvarianten, die umfassend mit Hilfe geeigneter in vitro-Verfahren hinsichtlich Fermentationseigenschaften und Proteinbeständigkeit geprüft wurden, wurden ausgewählte Varianten großtechnisch hergestellt und im Standardverdauungsversuch hinsichtlich Veränderungen der Verdaulichkeit von Energie und Nährstoffen in Folge der Behandlung untersucht. Darüber hinaus wurden Behandlungseffekte auf den Gehalt an antinutritiven Inhaltsstoffen und auf die epiphytischen mikrobiellen Gemeinschaften untersucht.

Aufgrund geringerer Ernteverluste beim Korndrusch und einer nur marginalen Steigerung des Futterwertes bis zur Totreife, ist die Ernte der Körnerleguminosen bereits zur Teigreife der Körner (d.h. ab ca. 50 % Korntrockenmasse) sinnvoll. Bei der anschließenden Silierung der feuchten Körner sind keine nennenswerten Nährstoffverluste aufgetreten. Die Bildung von Gärsäuren blieb unabhängig des Zusatzes homofermentative Milchsäurebakterien auf einem niedrigen Niveau. Die Kornsilagen waren über 7 Tage aerob stabil. Die Silierung der teigreifen Körner führte, entgegen der Erwartungen, nicht zu einer Proteolyse sondern zu einer Reduzierung der Proteinlöslichkeit und zu einem Anstieg des Gehaltes an pansenstabilem Protein. Eine hydro-thermische Aufbereitung der Kornsilagen konnte in Abhängigkeit der Behandlungsintensität (Temperatur und Behandlungsdauer) die ruminale Proteinbeständigkeit weiter stabilisieren und steigern. Gleichzeitig wurde die mikrobielle Proteinsynthese vermutlich aber limitiert. Dabei wurde deutlich, dass Temperaturen über 85 °C Korntemperatur eine zunehmende Proteinschädigung provozierten. Antinutritive Inhaltsstoffe wurden durch die Silierung und/oder thermische Behandlung in den Körnern erfolgreich reduziert. Bei der Silierung von Teil- und Ganzpflanzen traten proteolytische Prozesse auf, die erst bei mehr als 50 % Trockenmasse vermieden werden konnten. Teil- und Ganzpflanzen aus Erbsen und Ackerbohnen können aufgrund der sich im Verlauf der Abreife etablierenden natürlichen Milchsäurebakterien auch ohne Zusatz eines mikrobiellen Siliermittels siliert werden. Die thermische Behandlung des Grünguts oder der Silagen steigerte die ruminale Proteinbeständigkeit und erhöhte den Gehalt an nutzbaren Rohprotein am

Duodenum. Die Stärkequalität sowie der Gehalt an wertbestimmenden Nährstoffen wird durch Behandlung sowohl der Körner als auch der Korn-Restpflanzengemische kaum beeinflusst, was sich in weitestgehend unveränderten Gasbildungs- und Fermentationsprofilen zeigte. Weder Silierung noch nachfolgende thermische Behandlung hatten einen Effekt auf die Energie- und Nährstoffverdaulichkeit.

Erbsen und Ackerbohnen können als teigreifes Korn oder Ganzpflanze mit über 50 % Trockenmasse nach Silierung und anschließender hydro-thermischer Behandlung bis maximal 100 °C Guttemperatur erfolgreich und wirtschaftlich attraktiv in der Fütterung hochleistender Milchrinder eingesetzt werden.

Abstract

The current project was conducted to contribute increasing the attractiveness of peas and field beans as valuable sources of protein and starch (grains) or protein, starch and fibre (partial and whole crops) for ruminant nutrition. To achieve this, harvest and yield must be optimized, but practical methods to increase ruminal persistence of feed protein and starch are required as well. In the project, it was tested, whether the feed value of peas and field beans – as grains, partial crops or whole crops and at different maturity stages – can be improved by ensiling and subsequent hydro-thermic treatment, without loss of nutrient quality. At this, it was the objective to optimize stage of maturity for harvest, ensiling parameters and settings for thermic treatment.

A range of model treatments has been analysed for fermentation characteristics and protein persistence using in vitro techniques. Then, selected treatments were produced on farm scale and digestibility of energy and nutrients was determined. In addition, we analysed treatment effects on the concentration of antinutritional compounds and on composition and diversity of epiphytic microbial communities.

On the basis of the current results, it is useful to harvest peas and field beans already at approximately 50 % grain dry matter, because at this stage, crop loss is smaller than at later harvest and feed value is not much further increased during ongoing maturation. Ensiling of wet grains did not reduced nutrient density. The production of organic acids was low, independent of the use of homofermentative lactic acid bacteria. The grain silages were stable under aerobic storage conditions for at least 7 days. Contrary to our expectations, ensiling of the grains did not lead to proteolysis but a reduction of protein solubility and increase of rumen-undegraded protein. Additional hydro-thermic treatment further stabilized the protein and increased protein persistence depending on treatment intensity (temperature and duration of temperature exposure). Microbial protein synthesis was probably limited. Rising of treatment temperature above 85 °C may easily lead to protein damage. Ensiling and/or thermic treatment was successful to reduce antinutritional compounds in the grains. Ensiling of partial and whole crop peas led to proteolytic processes, which were avoided not until 50 % dry matter concentration. In partial and whole crops, a relevant stock of natural lactic acid bacteria establishes with progressing maturation, which is why these materials can be ensiled successfully without adding lactic acid bacteria. Thermic treatment of native partial or whole crop peas and field beans or their silages improved protein persistence and increased post ruminal crude protein contents. Starch or nutrient quality were less affected by ensiling or thermic treatment, which resulted in less altered gas production and fermentation profiles. Moreover, ensiling and thermic treatment had no effect on energy or nutrient digestibility.

In conclusion, peas or field beans can be used successfully for the feeding of high-yielding ruminants as grain with 50 % dry matter or as whole crop with more than 50 % dry matter after ensiling and subsequent hydro-thermic treatment up to a temperature of 100 °C in the material.

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	7
Abbildungsverzeichnis	8
Abkürzungsverzeichnis	10
1. Einführung	11
1.1. Gegenstand des Vorhabens	11
1.2. Ziele und Aufgabenstellungen des Projektes, Bezug des Vorhabens zu den einschlägigen Zielen der EPS oder zu konkreten Bekanntmachungen und Ausschreibungen.....	12
1.3. Planung und Ablauf.....	13
2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	14
3. Material und Methoden.....	15
3.1. Probenmaterial – Ernte, Silierung und thermische Behandlung	15
3.2. In vitro-Inkubationsversuche.....	15
3.2.1. Inkubation im Batch-Kultur-System	15
3.2.2. <i>Streptomyces griseus</i> -Protease Test	16
3.3. Standardverdauungsversuche	17
3.4. Mikrobiologische Untersuchungen	18
3.5. Elektronenmikroskopie der Stärkegranula	18
3.6. Antinutritive Inhaltsstoffe	19
3.7. Weitere Analysen	19
3.8. Statistische Auswertung	19
4. Darstellung der wichtigsten Ergebnisse.....	20
4.1. Projektabschnitt I.....	20
4.1.1. In vitro-Inkubationsversuche.....	20
4.1.2. Standardverdauungsversuch.....	22
4.1.3. Mikrobiologische Untersuchungen	24
4.1.4. Elektronenmikroskopie der Stärkegranula	28
4.1.5. Antinutritive Inhaltsstoffe	29
4.2. Projektabschnitt II.....	32
4.2.1. In vitro-Inkubationsversuche.....	32
4.2.2. Standardverdauungsversuche	46
5. Diskussion der Ergebnisse	48
6. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse	51
7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen.....	51

8. Literaturverzeichnis 53
9. Übersicht über alle im Berichtszeitraum realisierten Veröffentlichungen zum Projekt 57
10. Kurz gefasster Erfolgskontrollbericht **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 10.1. Beitrag der Ergebnisse zu den förderpolitischen Zielen..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 10.2. Wissenschaftliche und technische Ergebnisse des Vorhabens, erreichte Nebenergebnisse und wesentliche Erfahrungen..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 10.3. Erfindungen/Schutzanmeldungen und erteilte Schutzrechte, die vom Zuwendungsempfänger oder von am Vorhaben Beteiligten gemacht oder in Anspruch genommen wurden, sowie deren standortbezogene Verwertung (Lizenzen u.a.) und erkennbare weitere Verwertungsmöglichkeiten..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 10.4. Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 10.5. Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont) **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 10.6. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der Ergebnisse sowie Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 10.7. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer (z.B. Anwenderkonferenzen)... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
- 10.8. Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
11. Merkblatt mit den Projektergebnissen..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 : Scheinbare Verdaulichkeit der Energie und der Rohnährstoffe aus nativen und siliert plus getoasteten Erbsenkörnern.....	23
Tabelle 2 : Trockenmassekonzentration [g/kg] von Erbsenkörnern, Erbsenschröpschnitt und Erbsenganzpflanze zu 5 Reifestadien	24
Tabelle 3 : Siliercharakteristika und Konzentrationen an NH ₃ , Essigsäure und Alkoholen in Silagen [g/kg TM] aus Körnern, Schröpschnitt und Ganzpflanze der Felderbse zu 5 Reifestadien, mit und ohne Verwendung eines Silierzusatzes	27
Tabelle 4 : Konzentrationen an Phytat-P, Vicin, Convicin [g/kg Trockenmasse], Trypsininhibitoraktivität [mg inhibiertes Trypsin/g] und Tannine [%] in Erbsenkörnern und Ackerbohnenkörnern in Abhängigkeit von der Behandlung (nativ, siliert und siliert plus getoastet).....	30
Tabelle 5 : Parameter der Kinetik der Gasproduktion bei nativen, silierten, getrockneten und siliert plus getrockneten Ackerbohnen- und Erbsenschröpschnitt, die unter Verwendung der Gompertz-Funktion geschätzt wurden	32
Tabelle 6 : Mittelwerte der kleinsten Quadrate der in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse [%] nach 24 und 48 h Inkubation geschätzt nach Menke und Steingass (1988)	34
Tabelle 7 : Mittelwerte der kleinsten Quadrate der nach GfE (2016) geschätzten Gehalte an umsetzbarer Energie [MJ/kg Trockenmasse]	35
Tabelle 8 : Vergleich des mikrobiell synthetisierten Proteins, des pansenstabilen Proteins und des nutzbaren Rohproteins am Duodenum bei Ackerbohnen- und Erbsenschröpschnitten in Abhängigkeit von der Behandlung zu unterschiedlichen Inkubationszeiten	36
Tabelle 9 : Nährstoffzusammensetzung [g/kg Trockenmasse] und Energiegehalt [MJ/kg Trockenmasse] nativer und siliertes Erbsen- und Ackerbohnschröpschnitte	38
Tabelle 10 : Qualitätsparameter der untersuchten Silagen [g/kg TM].....	38
Tabelle 11 : Parameter der Kinetik der Gasproduktion bei nativen und silierten Erbsen- und Ackerbohnschröpschnitt, die unter Verwendung der Gompertz-Funktion geschätzt wurden	39
Tabelle 12 : Gehalte an Rohprotein, pansenstabilen Protein, mikrobiell synthetisiertem Protein und nutzbarem Rohprotein am Duodenum bei nativen und silierten Erbsen- und Ackerbohnschröpschnitt zu unterschiedlichen Inkubationszeiten.....	41
Tabelle 13 : Parameter der Kinetik der Gasproduktion bei nativen, silierten, getrockneten und siliert plus getrockneten Ackerbohnschröpschnitt, die unter Verwendung der Gompertz-Funktion geschätzt wurden	42
Tabelle 14 : Mittelwerte der kleinsten Quadrate der in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse [%] nach 24 und 48 h Inkubation geschätzt nach Menke und Steingass (1988)	44
Tabelle 15 : Gehalte an Rohprotein [g/kg Trockenmasse] und effektive Gehalte an pansenstabilem Protein [g/kg Trockenmasse] für ruminale Passageraten von 2, 5 und 8 %/h	46
Tabelle 16 : Mittelwerte der Verdaulichkeitskoeffizienten siliertes und siliert plus getrockneter Erbsenschröpschnitte	47
Tabelle 17 : Mittelwerte der kleinsten Quadrate der Verdaulichkeitskoeffizienten der Rohnährstoffe aus Erbsen- und Ackerbohnschröpschnitten in nativer bzw. siliertes Form	47

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Filtration und Trocknung der Proben	17
Abbildung 2: Hammel mit Kotsammelgeschirr in Stoffwechsellkäfigen	18
Abbildung 3: Gehalte an pansenstabilen Protein (UDP) und in der sauren Detergenzienfaser gebundenen Protein (C-Fraktion) in Erbsenkörnern in Abhängigkeit von der Art der Behandlung (n = nativ, s = siliert, st = siliert plus getoastet), sowie der einwirkenden Temperatur (120 bis 200 °C); TM = Trockenmasse, XP = Rohprotein	21
Abbildung 4: Anstieg des pansenstabilen Proteins (UDP) nach Silieren + Toasten bei 85-90 °C Korntemperatur (bei einem Durchsatz von 100 kg/h und ca. 190 °C Einblastemperatur); blaue Linien kennzeichnen den XP Gehalt; TM = Trockenmasse, XP = Rohprotein; der Unterschied zwischen den Behandlungen war signifikant mit $p < 0,001$	21
Abbildung 5: Principle coordinate analysis (PCoA) der epiphytischen bakteriellen (a) und eukaryotischen Zusammensetzung (b) nativer Erbsen auf Grundlage der Bray-Curtis-Similarity: Körner: grün; Schröpfschnitte: rot; Ganzpflanze: dunkelblau; Reifestadium 1: Kugeln; 2: Würfel; 3: Zylinder; 4: Tonnen; 5: Pyramiden; Anteil erklärter Variation: Bakterien: Coordinate 1 = 37,605%, coordinate 2 = 17,378%, coordinate 3 = 11,772%; Eukaryoten: Coordinate 1 = 28,827%, coordinate 2 = 22,105%, coordinate 3 = 10,750%	25
Abbildung 6: Principle coordinate analysis (PCoA) der epiphytischen bakteriellen (a) und eukaryotischen Zusammensetzung (b) von Erbsen in Abhängigkeit der Behandlung auf Grundlage der Bray-Curtis-Similarity: nativ: grün; siliert inkl. Siliermittel: dunkelblau; siliert inkl. Siliermittel nach 7 Tagen aerober Lagerung: rot; siliert ohne Siliermittel: hellblau; siliert ohne Siliermittel nach 7 Tagen aerober Lagerung: gelb; Körner: Würfel; Schröpfschnitte: Kugeln (Bakterien) bzw. Zylinder (Eukaryoten); Ganzpflanzen: Zylinder (Bakterien) bzw. Kugeln (Eukaryoten); Anteil erklärter Variation: Bakterien: Coordinate 1 = 24,600%, coordinate 2 = 12,302%, coordinate 3 = 9,527%; Eukaryoten: Coordinate 1 = 23,603%, coordinate 2 = 16,998%, coordinate 3 = 13,783%	26
Abbildung 7: Elektronenmikroskopische Aufnahmen der Stärkegranula und Matrixstrukturen bei a) nativen Erbsenkörnern, b) silierten Erbsenkörnern und c) siliert plus getoasteten Erbsenkörnern (180 °C, 30 min)	29
Abbildung 8: Reduktion der Trypsininhibitoraktivität in Erbsenkörnern durch silieren sowie silieren plus toasten bei 85 – 90 °C Korntemperatur (KT; bei einem Durchsatz von 100 kg/h und ca. 190 °C Einblastemperatur); der Standardfehler lag für alle Behandlungen bei 0,43, die Anzahl Freiheitsgrade bei 6; AM = Ausgangsmaterial (nativ), SIL = siliert, TM = Trockenmasse, 90 °C KT = toasten bei 90 °C KT; ^{ab} kennzeichnet Unterschiede zwischen den Behandlungen mit $p < 0,05$	31
Abbildung 9: Mittelwerte der kleinsten Quadrate der Konzentration an Vicin in unbehandelten (AM) und silierten Ackerbohnen (SIL); TM = Trockenmasse; Standardfehler waren 0,55 g/kg TM; rote Balken kennzeichnen die Sorte Fanfare, blaue Balken kennzeichnen die Sorte Taifun; ^{ab} kennzeichnen Unterschiede zwischen den Behandlungen mit $p < 0,01$	31
Abbildung 10: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen, silierten, getrockneten sowie siliert plus getrockneten Ackerbohnen-schröpfschnitt; AS-n = nativer Ackerbohnen-schröpfschnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnen-schröpfschnitt, AS-s+t = siliert und getrockneter Ackerbohnen-schröpfschnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnen-schröpfschnitt	33

Abbildung 11: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen, silierten, getrockneten sowie siliert plus getrockneten Erbsenschröpfchnitt; ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliierter Erbsenschröpfchnitt, ES-s+t = siliert und getrockneter Erbsenschröpfchnitt, ES-t = getrockneter Erbsenschröpfchnitt.....	33
Abbildung 12: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen und silierten Erbsen- und Ackerbohnschröpfchnitt; AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliierter Ackerbohnschröpfchnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliierter Erbsenschröpfchnitt.....	39
Abbildung 13: Vergleich der in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse (IVOMD) von nativen und silierten Erbsen- und Ackerbohnschröpfchnitt nach Menke und Steingass (1988) und nach GfE (2016); ^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede der Behandlung im Vergleich zur nativen Variante ($p < 0,05$); AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliierter Ackerbohnschröpfchnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliierter Erbsenschröpfchnitt	40
Abbildung 14: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen, silierten, getrockneten sowie siliert plus getrockneten Ackerbohnschröpfchnitt mit 50% Korntrockenmasse, TM); AS-n50 = nativer Ackerbohnschröpfchnitt (50 % TM), AS-s50 = siliierter Ackerbohnschröpfchnitt (50 % TM), AS-t50 = getrockneter Ackerbohnschröpfchnitt (50 % TM), AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpfchnitt (50 % TM)	43
Abbildung 15: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen, silierten, getrockneten sowie siliert plus getrockneten Ackerbohnschröpfchnitt mit 70 % Korntrockenmasse, TM); AS-n70 = nativer Ackerbohnschröpfchnitt (70 % TM), AS-s70 = siliierter Ackerbohnschröpfchnitt (70 % TM), AS-t70 = getrockneter Ackerbohnschröpfchnitt (70 % TM), AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpfchnitt (70 % TM)	43
Abbildung 16: Mittelwerte der kleinsten Quadrate der nach GfE (2016) geschätzten Gehalte an umsetzbarer Energie [MJ/kg Trockenmasse]; ^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede der Behandlung im Vergleich zur nativen Variante ($p < 0,05$); 50 = Reifestadium mit 50 % Korntrockenmasse, 70 = Reifestadium mit 70 % Korntrockenmasse, AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliierter Ackerbohnschröpfchnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpfchnitt, ME = umsetzbare Energie, TM = Trockenmasse.....	45

Abkürzungsverzeichnis

AB	Ackerbohne
AEVZ	Agrar- und ernährungswissenschaftliches Versuchszentrum
AS	Ackerbohnschröpfchnitt
AS-n	Ackerbohnschröpfchnitt nativ
AS-s	Ackerbohnschröpfchnitt siliert
AS-t	Ackerbohnschröpfchnitt getrocknet
AS-s+t	Ackerbohnschröpfchnitt siliert plus getrocknet
BLE	Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
DLG	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft
ER	Erbse
ER-n	Erbsenkörner nativ
ER-s+t	Erbsenkörner siliert plus getoastet
ES	Erbsenschröpfchnitt
ES-n	Erbsenschröpfchnitt nativ
ES-s	Erbsenschröpfchnitt siliert
ES-t	Erbsenschröpfchnitt getrocknet
ES-s+t	Erbsenschröpfchnitt siliert plus getrocknet
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
LfULG	Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie
LVG	Lehr- und Versuchsgut
mXP	mikrobiell synthetisiertes Protein
nXP	nutzbares Rohprotein am Duodenum
UDP	pansenstabiles Protein
UFOP	Union zur Förderung von Öl- und Proteinpflanzen
VDLUFA	Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
VQ	Verdaulichkeitsquotienten

1. Einführung

1.1. Gegenstand des Vorhabens

Gegenstand des Projektes war die Verbesserung des Futterwertes von Erbsen und Ackerbohnen als Korn, Teilpflanze (Schröpfschnitt) und Ganzpflanze für Wiederkäuer durch die frühzeitige Ernte und Silierung als kostengünstiges Lagerungs- und Konservierungsverfahren sowie der sich anschließenden thermischen Aufbereitung der hergestellten Silagen. Der Silierprozess sollte dabei so gesteuert werden, dass a) desmolytische und proteolytische Prozesse minimiert und b) die Stärkefraktionen möglichst nicht aufgeschlossen wird. Der anschließende Prozess der thermischen Behandlung durch Toasten (Körner) bzw. durch Heißlufttrocknen (Teil- und Ganzpflanzen) verfolgte das Ziel a) den Gehalt an antinutritiven Substanzen auf ein Minimum zu reduzieren, b) die ruminale Protein- und Stärkebeständigkeit zu erhöhen und c) eine Schädigung der Nährstoffe (insbesondere der Proteinfraction) durch ein „Übertoasten“ im Sinne zu hoher Temperatur und/oder zu langer Einwirkzeit zu verhindern. Anhand dieser Ergebnisse sollten praktikable und wirtschaftlich vertretbare Einsatzempfehlungen in der Fütterung von Erbsen und Ackerbohnen an Milchrinder formuliert werden. In der Projektlaufzeit wurden regional verfügbare Erbsen- und Ackerbohnsorten hinsichtlich ihrer Blühfarbe (Erbse) und des Tanningehaltes (Ackerbohne) unterschieden und an den Standorten des LVG/LfULG Köllitsch sowie in weiteren sächsischen Demonstrationsbetrieben des Demonstrationsnetzwerkes Erbse/Bohne sowohl in konventioneller als auch ökologischer Form angebaut. Während der Vegetationszeit wurde die Kornreife bonitiert und die Nährstoffentwicklung im Korn zu ausgewählten Reifestadien (Grünreife, Teigreife, Trockenreife) untersucht. Dabei sollte der frühestmögliche Erntetermin, ohne nennenswerten Ertragsverlust essentieller Nährstoffe zu provozieren, bestimmt werden. Die Erbsen und Ackerbohnen wurden zu Projektbeginn als Korn, sowie im späteren Projektverlauf als Ganz- und Teilpflanze (Schröpfschnitt) zu unterschiedlichen Reifezeitpunkten geerntet (Korndrusch, Häckselernte, Handerte). Das feuchte Erntegut wurde mechanisch zerkleinert und mit unterschiedlichen Silierzusätzen (d.h. amylolytisch wirksame oder nicht amylolytisch wirksame bzw. homofermentative oder heterofermentative Milchsäurebakterien) siliert. Sowohl nicht siliertes Ausgangsmaterial und Silagen wurden thermisch behandelt, wobei Temperatur und Behandlungsdauer variiert wurden, um, abhängig vom Material, optimale Prozessparameter identifizieren zu können. Die Untersuchungen wurden zunächst im Labormaßstab durchgeführt. Neben sensorischen und nasschemischen Analysen, die vom LfULG verantwortet und durch die AG Tierernährung der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg ergänzt wurden, sind umfassende in vitro-Untersuchungen mit unterschiedlichen Verfahren (enzymatische Verfahren und Batch-Kultur-Inkubation) durchgeführt worden, um Einflüsse der Behandlung auf Fermentationseigenschaften und Proteinbeständigkeit beschreiben zu können. Eine Auswahl der erfolgversprechendsten Varianten wurde im Anschluss großtechnisch hergestellt und wiederum umfassend analysiert.

Zusätzlich wurde hier die Verdaulichkeit der Nährstoffe und der Energie in Standardverdauungsversuchen bestimmt.

1.2. Ziele und Aufgabenstellungen des Projektes, Bezug des Vorhabens zu den einschlägigen Zielen der EPS oder zu konkreten Bekanntmachungen und Ausschreibungen

Das Gesamtziel des Projektes war es, Körner, sowie Teilpflanzen (Schröpschnitte) und Ganzpflanzen der einheimischen Kulturarten Ackerbohne und Erbse nach Silierung in Schläuchen oder Ballen und nachfolgendem Toasten bzw. Heißlufttrocknen, d.h. thermischer Behandlung, auf ihren Futterwert und ihre Fütterungstauglichkeit zu prüfen, wobei insbesondere Veränderungen der Proteinlöslichkeit im Pansen und der Fermentierbarkeit der Stärke im Fokus der Untersuchungen standen. Die Silierung von erntefrischen und zum Teil rückgefeuchteten Körnerleguminosen ist in den letzten Jahren erfolgreich getestet worden und stellt das mit Abstand kostengünstigste Konservier- und Lagerungsverfahren dar. Die Silierung trägt zudem dem Erfordernis hoher Stoffstromdurchsätze bei der Ernte Rechnung. Infolge des Silierprozesses und der nachfolgend thermischen Behandlung des Materials, war, neben einer Erhöhung der Gehalte an pansenstabilen Protein und an Durchflussstärke, auch eine Reduzierung des Gehaltes an antinutritiven Inhaltsstoffen zu erwarten. Der Silierprozess ist dabei derart zu steuern, dass a) proteolytische und desmolytische Prozesse auf ein Minimum beschränkt bleiben und b) ein weitgehender Erhalt der Stärkefraktion in den Leguminosenkörnern gewährleistet wird. Durch eine entsprechende Steuerung des nachfolgenden Toast- bzw. Trocknungsprozesses wurde das Ziel verfolgt, die Gehalte an pansenstabilen Protein und an Durchflussstärke zu steigern, ohne die Verdaulichkeit wesentlich zu reduzieren. In Abhängigkeit von den Ergebnissen des Projektes wurde das Ziel verfolgt, abschließend Einsatzempfehlungen zu formulieren, welche einen deutlich höheren Anteil an Erbsen bzw. Ackerbohnen in Milchviehrationen zulassen, als dies aktuell der Fall ist.

Der Bezug zu den förderpolitischen Zielen bzw. zum Förderprogramm war im Projekt gegeben, da das Programm nach Bekanntmachung Nr. 09/14/31 vom 27.03.2015 die Verwertung von Leguminosen (hier: Ackerbohnen und Erbsen) entlang der Wertschöpfungskette fördert und dabei sowohl konventionelle als auch ökologische Bereiche berücksichtigt, was im durchgeführten Projekt erfolgte. Im Detail sollte durch das Projekt erreicht werden, dass im Hinblick auf die einheimischen Kulturarten Ackerbohne und Erbse als pflanzliche Proteinträger:

- Forschungslücken geschlossen werden, die einem stärkeren Einsatz der beiden genannten Kulturarten in der Tierernährung, hier der Wiederkäuerernährung, entgegenstehen
- im Wettbewerb mit Sojabohnen und deren Nebenprodukten eine höhere Konkurrenzfähigkeit entsteht
- deren Anbauwürdigkeit und Attraktivität im Inland steigt

1.3. Planung und Ablauf

Im ersten Projektabschnitt wurden vor der Vollreife geerntete Körner von Felderbse und Ackerbohne in nativem, siliertem sowie siliert und getoastetem Zustand (Übernahme des Materials vom Projektpartner Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie; siehe dortiger Abschlussbericht) im Standverdaunungsversuch an adulten Hammeln sowie in vitro (Gasbildung mit Pansensaft; Protease-Test) untersucht. Stärkegranula wurden elektronenmikroskopisch dargestellt. Während der Abreife von Erbsen erfolgte darüber hinaus eine Untersuchung der Veränderung der Nährstoffkonzentration, der Silierbarkeit und des mikrobiellen Besatzes mithilfe molekularbiologischer Methoden.

Auf Grundlage der im ersten Projektabschnitt gewonnenen Erkenntnisse und aufgrund entstandener Probleme v.a. bei der großtechnischen Erzeugung von Körnersilagen (insbesondere Trockenheit, technische Probleme bei der Ernte und Silierung feuchter Körner sowie Schadnagerbefall) wurde der Projektplan in Abstimmung der Projektpartner und der BLE verändert und um einen zweiten Projektabschnitt erweitert. Die Projektverlängerung zur Umsetzung des geänderten Projektplans wurde mit Bescheid vom 11.02.2019 genehmigt. Die angepasste Ausrichtung des Projekts hatte zum Ziel, Erbsen und Ackerbohnen als Teil- bzw. Ganzpflanzen zu ernten, zu silieren und anschließend durch Heißlufttrocknen thermisch aufzubereiten.

Seitens der AG der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg waren im erweiterten Projektplan drei Arbeitspakete vorgesehen: Arbeitspaket A umfasste ergänzende Analysen zur Schnitt- bzw. Reifezeitpunktoptimierung und zur kombinierten Silierung und Wärmebehandlung von Erbsen und Ackerbohnen (aus großtechnisch erzeugten Varianten), nämlich a) die Analyse von Speicherkohlenhydraten mono- bis oligomerer Formen (quantitative Bestimmung), b) die elektronenmikroskopische Darstellung behandlungsbedingter Veränderungen der Stärkegranula in ihrer Verbundstruktur, c) die Analyse ausgewählter antinutritiver Inhaltsstoffe und d) mikrobiologische Untersuchungen zur Beschreibung der epiphytischen Mikroflora und deren Veränderung in Folge der Abreife bzw. der Silierung. Arbeitspaket B umfasste in vitro Untersuchungen zur Charakterisierung von Schnitt- bzw. Reifezeitpunkt- und Behandlungseffekten auf den Futterwert von Erbsen und Ackerbohnen (aus ausgewählten Varianten). Hierfür wurde die Dynamik der Gasbildung (ruminale Stärkeabbau) und das nutzbare Rohprotein am Duodenum unter Verwendung mikrobieller Batchkulturen aus Pansensaft, sowie pansenstabiles Protein im enzymatischen Schätzverfahren bestimmt. Zusätzlich war die Untersuchung der Abbaubarkeit von Rohprotein, Stärke und von Faserkomponenten im Daisy II-Inkubator geplant. Abschließend sollte im Arbeitspaket C ein Standardverdaunungsversuch zur Bestimmung der Nährstoffverdaulichkeit in Abhängigkeit der kombinierten Behandlung durch Silierung und Wärmebehandlung von Erbsen und Ackerbohnen (aus großtechnisch erzeugten Varianten) durchgeführt werden.

Primär aufgrund von Verzögerungen in der Versuchsdurchführung durch die Corona-Pandemie konnte der für die Projektverlängerung vorgesehene Zeitplan nicht eingehalten werden und wurde am 15.07.2020 und 17.02.2021 nochmals verlängert.

Der Ablauf der geplanten Untersuchungen, Zwischenergebnisse und aufgetretene Probleme wurden in regelmäßigen Sachstandsberichten sowie Absprachen und Projekttreffen mit dem Projektpartner und der BLE abgestimmt und diskutiert.

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Das vom BMEL über die BLE geförderte Vorhaben BLE-03HS002 (Zeyner et al., 2008; Gefrom et al., 2012; Gefrom, 2013; Gefrom et al., 2014) sowie ein im Auftrag des UFOP e.V. durchgeführtes Projekt (Thaysen, 2009) hatten zum Ergebnis, dass die erfolgreiche Silierung großkörniger Leguminosen sowohl nach Ernte in einem physiologischen Stadium mit höherer Kornfeuchte (ca. 30-35 % Feuchte) als auch in der Voll- bzw. Totreife nach Rückbefeuchtung erfolgreich ist. Dabei war die Silierung trotz zu erwartender schlechter Vergärbarkeit aufgrund niedriger Zuckergehalte gut möglich, da vermutlich oligomere Kohlenhydrate für die Milchsäurebildung durch Milchsäurebakterien auch ohne zugesetzter Zuckerquelle genutzt werden konnten. Der Zusatz leistungsfähiger, osmotoleranter MSB erhöht die Sicherheit des Gärprozesses. Das dazu verwendete biologische Siliermittel aus *Lactobacillus plantarum* Stämmen führte allerdings im Vergleich zur Kontrollvariante ohne Einsatz eines Siliermittels zu einer Reduktion des Stärkegehaltes bei stärkereichen Leguminosenarten wie Ackerbohne und Erbse um etwa 50 %. Dies war, je nach Einsatzziel, im Hinblick auf den Futterwert kritisch zu beurteilen. Die Reduzierung antinutritiver Inhaltsstoffe verlief weitgehend effektiv und bestätigte die Ergebnisse früherer Studien (Übersicht siehe Gefrom et al., 2013). Fütterungsversuche mit Lupinen haben bei Broilern und Absetzferkeln gezeigt, dass die Silierung feuchter Leguminosenkörner auch höhere Anteile in der Ration ohne Leistungsreduktion zulässt.

Bisher unzureichend charakterisiert waren die Auswirkungen des Gärprozesses auf N-haltige Fraktionen und deren Löslichkeit (Proteinlöslichkeit) sowie die Möglichkeit des Einsatzes osmotoleranter Milchsäurebakterien bei weitgehendem Erhalt der im Korn gelagerten Stärkemenge.

Im Vergleich zur Ernährung von Monogastriern (z.B. Geflügel: BLE-01HS029, BLE-02OE622, BLE-11NA035 oder BLE-11OE070; Schweine: BLE-11NA034, BLE-02OE209, BLE-02OE209/F, BLE-02OE209/F [Erbsenschalen], BLE-03OE423, 07OE024, BLE-11NA034, BLE-11NA036, BLE-NA056 oder BLE-11OE021; Zusammenfassung siehe BLE-10OE088, BLE-10OE089) wurde der Einsatz von Leguminosenkörnern bei Wiederkäuern bislang wenig untersucht (z.B. BLE-98UM132 und BLE-02OE005).

Im Rahmen letztgenannter Untersuchungen zeigten sich widersprüchliche Effekte einer thermischen Behandlung der Körner auf in vitro-Fermentationscharakteristika

(Gasbildungsverlauf), bei aber insgesamt positiver Wirkung auf die Milchleistung im Fütterungsversuch (hier Einsatz hitzebehandelter Erbsen als alleiniges Kraftfutter). Thermische Behandlung wird bei großkörnigen Leguminosen angewandt um den Gehalt an antinutritiven Inhaltsstoffen zu reduzieren und um eine bessere Verfügbarkeit von Futterprotein – primär über die Reduktion antinutritiver Substanzen – und erhöhten Aufschluss von Stärke zu realisieren (Arija et al., 2008; Frikha et al., 2013). Abhängig vom Verfahren und der in Futter vorliegenden Kombination reaktiver Nährstoffe ist aber auch eine Erhöhung des pansenstabilen Anteils des Futterproteins sowie aufgrund der Retrogradierung von Stärke im Abkühlungsprozess auch eine Erhöhung des Anteils resistenter Stärke möglich. Diese Prozesse können in der Wiederkäuerernährung potentiell von Vorteil sein, setzen aber voraus, dass die Prozessführung während der Silierung weitgehend protein- und stärkeerhaltend erfolgt und, dass das Toasten eine höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber Abbauprozessen bewirkt. Diesbezügliche Kenntnisse über die Kombination von Silieren und Toasten von Leguminosenkörnern lagen bislang nicht vor.

Untersuchungen zur Silierung von Erbsen- bzw. Ackerbohnganzpflanzen in einer frühen Phase der Kornentwicklung (d.h. rund 30 % Trockenmasse) ergaben pH-Werte unter 4,0 und hohe Milchsäuregehalte (rund 50 g/kg Trockenmasse; Mustafa und Seguin, 2003; Tyrolová und Výborná, 2011; Albers und Kaemena, 2015), wovon eine geringe Pufferkapazität bei hohem Vergärbarkeitsquotienten und einem hohen Angebot an leicht löslichen Kohlenhydraten abgeleitet werden kann. Die Silierung zu einem späteren Reifestadium (d.h. Ende der Grünreife bei rund 40 % Trockenmasse) war hinsichtlich der Bildung von Gärsäuren nur eingeschränkt erfolgreich (Albers und Kaemena, 2015). Untersuchung zur Silierung von Teilpflanzen (Schröpfschnitten) von Erbsen und Ackerbohnen sowie zur thermischen Aufbereitung dieser Produkte waren bisher nicht bekannt.

3. Material und Methoden

3.1. Probenmaterial – Ernte, Silierung und thermische Behandlung

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden Körner, Teilpflanzen (Schröpfschnitte) und Ganzpflanzen von Erbsen und Ackerbohnen verschiedener Sorten verwendet. Alle verwendeten Proben wurden vom Projektpartner (LfLUG Sachsen) zur Verfügung gestellt. Alle Behandlungen des Probenmaterials – d.h. Silierung und thermische Behandlung durch Toasten bzw. Trocknen – wurden vom LfLUG durchgeführt und sind im Schlussbericht des Projektpartners ausführlich beschrieben.

3.2. In vitro-Inkubationsversuche

3.2.1. Inkubation im Batch-Kultur-System

Alle in vitro Inkubationen mit Batch-Kulturen aus dem Pansensaftmikrobiom von Schafen wurden im ANKOM RF Gasbildungssystem (ANKOM Technology, Macedon, NY, USA) durchgeführt. Für jedes der zu testenden Substrate (Behandlungen von Erbse oder Ackerbohne) wurden mindestens 4 aufeinander folgende Durchgänge absolviert (d.h. mindestens 4 Wiederholungen je Substrat). In jedem Durchgang wurde

jedes Substrat in mehreren Parallelen inkubiert. Die Inkubationsdauer war i.d.R. 24 oder 48 h, oder es wurde eine Zeitreihe mit 0, 2, 4, 8, 24 und 48 h Inkubationsdauer gemessen. Die Inkubation folgte im Wesentlichen der Methodenvorschrift zum Hohenheimer Futterwerttest (VDLUFA, 2012; Methode 25.1). Pansensaft wurde ca. 1,5 h vor der Inkubation von mindestens 2 pansenfistulierten Hammeln entnommen, durch ein Seihtuch gefiltert und in Thermosflaschen transportiert. Der verwendete Puffer wurde so angepasst, dass N im Laufe der Fermentation nicht limitierend wird und so mikrobielles Wachstum begrenzt. Dafür wurde NH_4HCO_3 um 2 g/l erhöht und NaHCO_3 um 2 g/l verringert. Es wurde dann unter kontinuierlichem CO_2 -Strom ein Teil Pansensaft und 2 Teile Puffer gemischt und bei konstant 39°C und 80 rpm im Schüttelwasserbad inkubiert. Die inkubierte Substratmenge war 0,2 g des zuvor in einer Kugelmühle pulverisierten Materials. Vor Beginn der Datenaufzeichnung wurden die Kopfräume der Fermenter mit Argon gespült. Das System zeichnet den Gasdruck an der Messeinheit über dem Kopfraum kumulativ auf und sendet die Daten in Echtzeit an einen Computer.

Die in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse wurde auf Basis der gemessenen Gasbildung nach Menke und Steingass (1988) und nach GfE (2016) geschätzt. Zusätzlich wurden die Gehalte an umsetzbarer Energie nach GfE (2016) ermittelt.

Zur Bestimmung des nutzbaren Rohproteins am Duodenum wurden i.d.R. Fermenter nach 8 und 24 h Inkubation in Eiswasser gestellt um die Fermentation zu stoppen, dann quantitativ in einen Destillationszylinder überführt, bevor $\text{NH}_3\text{-N}$ nach Zugabe von 4 ml NaOH am Kjeltec analysiert wurde.

Zur Bestimmung des mikrobiell synthetisierten Proteins wurde die Methode nach Raab et al. (1983) verwendet. Im Zuge dessen wurden ruminal-abbaubarer N, pansenstabilen Protein und nutzbares Rohprotein am Duodenum experimentell oder rechnerisch ermittelt.

3.2.2. *Streptomyces griseus*-Protease Test

Der *Streptomyces griseus* Protease-Test (im Folgenden als Protease-Test bezeichnet) wurde genutzt, um die Gehalte an pansenstabilen Protein zu schätzen. Das Vorgehen orientierte sich an dem standardisierten Protokoll von Licitra et al. (1998). Dazu wurden die Futtermittel auf 1 mm Siebgröße vermahlen und 0,5 g eines Futtermittels in ein Zentrifugenröhrchen eingewogen. Pro Zeitpunkt und Futtermittel wurden 2 Zentrifugenröhrchen verwendet. Für den Vergleich zu Konzentrat- und Grobfuttermitteln wurden in jedem Durchlauf je eine Ackerbohne (Korn) und eine Grassilage cointinkubiert. Nach Zugabe von 40 ml Borat-Phosphat-Puffer, wurden die Zentrifugenröhrchen in einen Wärmeschrank für 1 h bei 39°C vorinkubiert und anschließend die Protease-Lösung (Protease aus *Streptomyces griseus* Typ XIV; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München) zugegeben. Anhand des Gehalts an Reinprotein, ermittelt nach Licitra et al. (1996), wurde die Menge an Protease-Lösung für jedes Futtermittel berechnet. Im dritten in vitro-Versuch im Projektabschnitt 2 wurde zusätzlich α -Amylase aus *Bacillus spp.* (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München) und

der Multienzymkomplex Viscozym L (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München) eingesetzt. Die Enzymdosierungen wurden anhand der Vorgaben von Assoumani et al. (1992) und Rodrigues et al. (2014) ermittelt. Nach Zugabe der Enzyme wurden die Futtermittel für 2, 4, 8, 24 und 48 h inkubiert und nach Ablauf der entsprechenden Inkubationszeit durch Filterpapier gefiltert (Abbildung 1). Die Rückstände wurden über Nacht luftgetrocknet (Abbildung 1) und der N-Gehalt mittels Kjehldahl-Verfahren bestimmt. Aus den berechneten Gehalten an pansenstabilen Protein zu 8 und 24 h wurde das effektive pansenstabile Protein für angenommene ruminale Passageraten von 2, 5 und 8 % je h nach Edmunds et al. (2012) ermittelt.



Abbildung 1: Filtration und Trocknung der Proben

3.3. Standardverdauungsversuche

Die Standardverdauungsversuche wurden mit 8 adulten Hammeln im AEVZ Merbitz durchgeführt. Im zweiten Versuch musste die Bestimmung der Nährstoffverdaulichkeit der Ackerbohnschröpschnittsilage aufgrund teils zu hoher Futterrückwaagen wiederholt werden. Der Wiederholungsversuch fand vom 06. bis 27. April 2021 statt. Die Standardverdauungsversuche gliederten sich jeweils in zwei aufeinanderfolgende Durchgänge mit je 3 Wochen Adaptationsphase (diese wurde bei der Wiederholung aufgrund der Gewöhnung der Tiere um eine Woche reduziert) und 6 Tagen Gesamtkotsammlung gemäß der Vorgaben der GfE (1991). Der erste Versuch wurde dabei als Differenzversuch mit Zulage der Testkomponenten zu einer Grundration durchgeführt, der zweite Versuch hingegen als Direktversuch. Während des Versuchs wurden die Hammel vorübergehend in Stoffwechselkäfigen gehalten und während der Sammelperioden zusätzlich mit Kotsammelgeschirren ausgerüstet (Abbildung 2). Die

Tiere wurden nahe dem energetischen Erhaltungsbedarf ernährt. Die individuelle Lebendmasseentwicklung wurde dokumentiert. Futterrückwaagen lagen unter 2 % der dargebotenen Futtermenge.



Abbildung 2: Hammel mit Kotsammelgeschirr in Stoffwechselkäfigen

Unter Nutzung der ermittelten Verdaulichkeiten wurden der Gehalt an umsetzbarer Energie und an Nettoenergie-Laktation nach den Vorgaben der GfE (2001) berechnet.

3.4. Mikrobiologische Untersuchungen

Zur Charakterisierung der epiphytischen mikrobiellen Gemeinschaften auf Erbsenkörnern, -schröpschnitten und -ganzpflanzen wurde genomische DNS mit Hilfe des Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep Kit (Zymo Research Corp., Irvine, CA, USA) extrahiert und aufgereinigt. PCR-Amplifizierung und Reinigung der PCR Produkte erfolgte nach dem Protokoll des Illumina MiSeq Systems. Die Amplifizierung der V3-V4 Region der 16S rRNA Gene erfolgte unter Nutzung des V3f (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') und des V4r (5'-GGACTACHVGGGTATCTAATCC-3') Primers (Klindworth et al., 2013). Zur Amplifizierung der V8-V9 Region der 18S rRNA Gene wurden die 1422f (5'-ATAACAGGTCTGTGATGCCCT-3') und 1797r (5'-GCCTCCYGCAGGTTACCTAC-3') Primer genutzt (Bradley et al., 2016). Die Index-PCR wurde mit dem Nextera XT Index Kit (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) durchgeführt. Die Sequenzierung der Amplicons erfolgte mit dem Illumina MiSeq System (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) und MiSeq Reagent Kit v3.

3.5. Elektronenmikroskopie der Stärkegranula

Elektronenmikroskopische Aufnahmen der Stärkegranula und ihrer Matrixstrukturen wurden von nativen, silierten und anschließend bei unterschiedlichen Temperaturen getoasteten Erbsenkörnern erstellt. Dafür wurde ein JEOL 640 SEM (JEOL Ltd.,

Tokyo, Japan) verwendet. Ziel war es, mögliche morphologische Veränderungen der Stärkegranula infolge des Silierens bzw. der thermischen Behandlung beispielhaft zu visualisieren. Die Proben wurden zunächst bei 40°C schonend getrocknet, auf Ø 1 mm Siebgröße vermahlen und goldbeschichtet. Um die Stärkegranula nicht zu zerstören wurde die Spannung von 20 auf 15 keV reduziert.

3.6. Antinutritive Inhaltsstoffe

Die Analyse antinutritiver Inhaltsstoffe wurde durch die JenaBios GmbH durchgeführt. Phytat-P wurde mittels nephelometrischer Methode nach Sinram (1986) bestimmt. Die Trypsininhibitoraktivität wurde nach Kakade et al. (1969) und die Konzentrationen an Vicin und Convicin mittels HPLC gemäß Pulkkinen et al. (2015) analysiert. Die Bestimmung von Tanninfraktionen erfolgte nach Terrill et al. (1992) mittels Vanillinmethode.

3.7. Weitere Analysen

In Ergänzung der beschriebenen Analysen wurden alle im Projekt erzeugten Silagen hinsichtlich pH-Wert, Trockenmasseverlust, den Gehalten an organischen Säuren und Ethanol – mittels HPLC – sowie der aeroben Stabilität nach der Methode von Honig (1990) untersucht (siehe Schlussbericht des LfULG).

Die grundlegende Bestimmung der Trockenmasse- und Nährstoffgehalte der erzeugten Futtermittel und Futtermittelbehandlungen erfolgte nach VDLUFA-Methodenbuch III (VDLUFA, 2012). Stärke wurde sowohl polarimetrisch als auch mittels Amyloglucosidase-Methode bestimmt (die jeweils verwendete Methode ist in den entsprechenden Manuskripten genannt). Bei ausgewählten Proben wurde der Stärkeaufschlussgrad gemäß VDLUFA (2012) – Methode 7.2.6 – bestimmt. Die CNCPS-Proteinfraktionen A (Nicht-Protein N), B1 (Reinprotein, welches löslich ist in Borat-Phosphat-Puffer), B2 (Reinprotein, welches im Puffer unlöslich ist minus Reinprotein, welches in neutraler Detergenzienlösung unlöslich ist), B3 (Reinprotein, welches unlöslich ist in neutraler Detergenzienlösung, aber löslich in saurer Detergenzienlösung), sowie C (Reinprotein, welches in saurer Detergenzienlösung unlöslich ist) wurden nach Licitra et al. (1996) bestimmt. Daraus wurden Reinprotein (B1 + B2 + B3 + C) und lösliches Protein (A + B1) berechnet. Das pepsinunlösliche Protein wurde auf Grundlage der Methode von Weissbach et al. (1985) analysiert. NH₃-N Konzentrationen wurden nach VDLUFA (2012) – Methode 4.8.1 – bestimmt. Die Konzentrationen an Aminosäuren wurden nach VDLUFA (2012) – Methode 4.11.1 – und Tryptophan nach Fontaine et al. (1998) ermittelt.

3.8. Statistische Auswertung

Für die biostatistische Auswertung der erhobenen Daten wurde SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) verwendet. I.d.R. erfolgte zuvor eine Ausreißerkontrolle mit Hilfe von Boxplots. Zur Analyse von Gesamtgasbildung, pH-Werten, den Gehalten an nutzbarem Rohprotein am Duodenum und pansenstabilem Protein und antinutritiven

Inhaltsstoffen wurden gemischte lineare Modelle in der Prozedur MIXED genutzt. Die studentisierten Residuen wurden auf Normalverteilung geprüft. Zur Modellierung der Verläufe der Gasbildung wurde die Gompertz-Funktion in der Prozedur MODEL verwendet (France et al., 2000). Verdaulichkeitskoeffizienten wurden entweder wie oben beschrieben in MIXED oder mittels t-Test ausgewertet. Die Analyse der MiSeq Amplicon Sequenzen wurde mit QIIME 2 2019.1 (Bolyen et al., 2019) durchgeführt und umfasste das Entfernen der Primersequenzen mit Cutadapt, Qualitäts- und Längenfilter, das Entfernen von Chimären, DADA2 Clustering, sowie die taxonomische Zuordnung mit Hilfe der SILVA 132 rRNA Datenbank (Quast et al., 2013; Yilmaz et al., 2014). Für alle weiteren Berechnungen und statistischen Tests wurden Amplicon sequence variants (ASVs) genutzt. Diese wurden mit two-way PERMANOVA und Principal coordinate analysis (PCoA) in PAST 4.01 (Hammer et al., 2001), auf Grundlage von Bray-Curtis-Similarity, nach Pflanzenteil/Variante und Reifestadium (bei nativen Erbsen) bzw. Pflanzenteil/Variante und Behandlung (bei Silagen) gruppiert. Shannon-Diversitäts-Index Werte wurden mit QIIME 2 berechnet und mit dem Kruskal-Wallis-Test in SAS NPAR1WAY ausgewertet. Für alle statistischen Tests wurde das Signifikanzniveau auf $p < 0,05$ festgelegt.

4. Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

4.1. Projektabschnitt I

4.1.1. In vitro-Inkubationsversuche

Ziel dieser Versuche war die Bestimmung von Fermentationscharakteristika (Gasbildung, Gasbildungsdynamik, Methanbildung) sowie der Fermentierbarkeit des Futterproteins (durch Schätzung des effektiv nutzbaren Rohproteins am Duodenum und des pansenstabilen Futterproteins) bei Ackerbohnen- und Erbsenkörnern in Abhängigkeit von der Behandlung – Silierung und Toasten – wobei letzteres, am Beispiel der Erbse, zusätzlich hinsichtlich Toastdauer und Toasttemperatur abgestuft worden ist. Die Temperatur beim Toasten der Erbsenkörner war 120, 140, 160, 180 bzw. 200 °C für jeweils 30 min; die Dauer des Toastens wurde mit 10, 20 bzw. 30 min bei jeweils 160 °C variiert. Für diese in vitro-Untersuchungen wurde Probenmaterial aus den Modellversuchen der LfULG verwendet. Gasbildung, Methanertrag und nutzbares Rohprotein am Duodenum waren weder durch die Silierung noch das Toasten maßgeblich beeinflusst; eine Reduktion der Gasbildung durch diese Behandlungen war im Ansatz aber erkennbar. Bereits die milchsäure Silierung führte zu einem Anstieg des pansenstabilen Proteins ($p < 0,05$; Abbildung 3). Toasten scheint den ruminalen Abbau v.a. des Futterproteins (bei Erbse) wie gewünscht zu verzögern bzw. zu reduzieren; der Gehalt an pansenstabilen Protein stieg dabei mit zunehmender Temperatur (Abbildung 3) und Dauer des Toastens an ($p < 0,05$). Eine Proteinschädigung trat nicht ein (kein Anstieg der C-Fraktion nach CNCPS bis 200 °C; Abbildung 3). Der Anteil an löslichem Protein sank bei der Erbse durch das Silieren und das nachfolgende Toasten (160 °C, 30 min) von 77 auf 61 %, bei der Ackerbohne hingegen trat keine wesentliche Reduzierung des löslichen Proteins ein (67 % bei nativen, 65 % bei siliert plus getoasteten Ackerbohnen). Im Zuge der schrittweisen

Temperaturerhöhung beim Toasten der Erbsenkörner sank der Anteil an löslichem Protein bis auf 36 %.

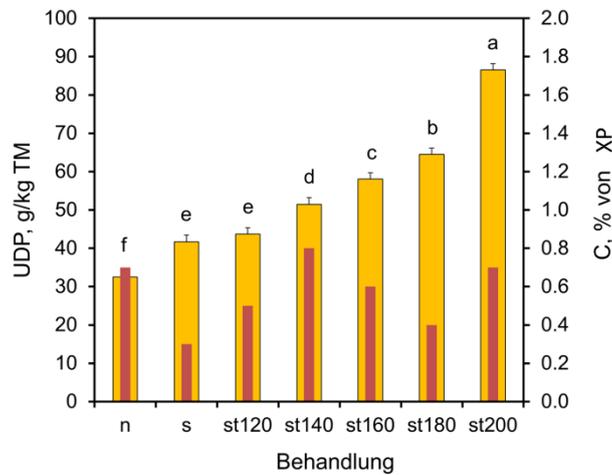


Abbildung 3: Gehalte an pansenstabilen Protein (UDP) und in der sauren Detergenzienfaser gebundenen Protein (C-Fraktion) in Erbsenkörnern in Abhängigkeit von der Art der Behandlung (n = nativ, s = siliert, st = siliert plus getoastet), sowie der einwirkenden Temperatur (120 bis 200 °C); TM = Trockenmasse, XP = Rohprotein

Auch bei silierten plus getoasteten Erbsenkörnern aus großtechnischer Produktion kam es zu einem signifikanten Anstieg des pansenstabilen Proteins infolge der Behandlung ($p < 0,001$; Abbildung 4). Eine Proteinschädigung trat ansatzweise auf, spiegelte sich aber nicht in einer verminderten Rohproteinverdaulichkeit (siehe unten).

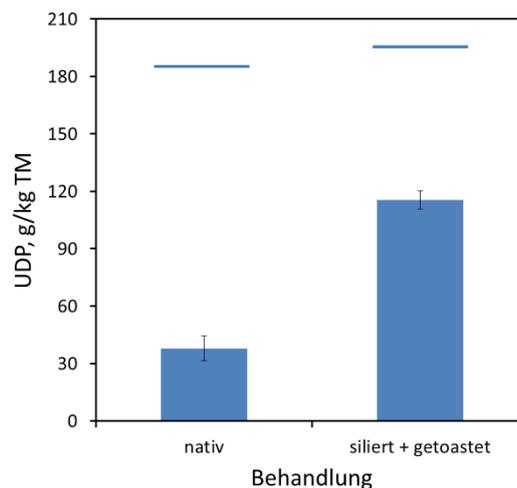


Abbildung 4: Anstieg des pansenstabilen Proteins (UDP) nach Silieren + Toasten bei 85-90 °C Korntemperatur (bei einem Durchsatz von 100 kg/h und ca. 190 °C Einblastemperatur); blaue Linien kennzeichnen den XP Gehalt; TM = Trockenmasse, XP = Rohprotein; der Unterschied zwischen den Behandlungen war signifikant mit $p < 0,001$

4.1.2. Standardverdauungsversuch

Die ermittelten Verdaulichkeitskoeffizienten aus nativen und siliert plus getoasteten Erbsenkörnern sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Verdaulichkeit der Energie und der Rohnährstoffe lag in einer typischen Größenordnung (DLG, 1997). Die kombinierte Behandlung der Erbsenkörner (silieren und anschließendes Toasten bei 85-90°C Korntemperatur bei 100 kg/h Durchfluss) hatte keinen Einfluss auf die Verdaulichkeit der Energie, der organischen Masse oder der Rohnährstoffe. Allerdings stieg die Verdaulichkeit von Rohfett und der neutralen Detergenzienfaser scheinbar um etwa 10 %. Rohfett war in nur geringem Umfang in den Erbsenkörnern und im Kot enthalten, wodurch die analytische Ungenauigkeit zunimmt. Durch die Silierung und das darauffolgende Toasten sank der Anteil des löslichen Proteins von 74 auf 16 %; das neutrale Detergenzien-unlösliche Rohprotein stieg um ca. 30 % anteilig an der neutralen Detergenzienfaser und führte wahrscheinlich zu einer Überschätzung der Aufnahme und der Verdaulichkeit der neutralen Detergenzienfaser. Auf Grundlage der ermittelten Verdaulichkeiten wurden die Konzentrationen an umsetzbarer Energie – 13,8 bzw. 13,9 MJ/kg Trockenmasse – sowie Nettoenergie Laktation – 8,9 bzw. 8,9 MJ/kg Trockenmasse – im nativen bzw. siliert plus getoastetem Material berechnet (GfE, 2001). Die Behandlung hatte hier keinen Effekt.

Tabelle 1 : Scheinbare Verdaulichkeit der Energie und der Rohnährstoffe aus nativen und siliert plus getoasteten Erbsenkörnern

	OM	XA	XP	XL	XF	aNDFom	ADFom	NFE	XS	XZ	GE
ER-n	0,94 (0,019)	0,38 (0,200)	0,90 (0,033)	0,49 (0,049)	0,61 (0,055)	0,69 (0,059) ^b	0,65 (0,069)	0,99 (0,008)	1,00 (0,0007)	1,00 (0,003)	0,91 (0,022)
ER-s+t	0,94 (0,026)	0,39 (0,140)	0,89 (0,042)	0,61 (0,088)	0,65 (0,078)	0,81 (0,055) ^a	0,66 (0,074)	0,99 (0,015)	1,00 (0,001)	0,99 (0,006)	0,91 (0,027)

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede bei $p < 0,05$; ADFom = saure Detergenzienfaser (aschefrei), ADL = saures Detergenzienlignin, aNDFom = neutrale Detergenzienfaser (mit Amylase behandelt und aschefrei), ER-n: native Erbse, ER-s+t: siliert plus getoastete Erbse, GE = Bruttoenergie, OM = organische Masse, NFE = N-freie Extraktstoffe, XF = Rohfaser, XL = Rohfett, XP = Rohprotein; XS: Stärke; XZ: Rohzucker Standardfehler sind in Klammern gegeben.

4.1.3. Mikrobiologische Untersuchungen

Die Abreife der Pflanzenteile ist durch die jeweilige Konzentration an Trockenmasse charakterisiert worden, welche in Tabelle 2 dargestellt ist.

Tabelle 2: Trockenmassekonzentration [g/kg] von Erbsenkörnern, Erbsenschröpschnitt und Erbsenganzpflanze zu 5 Reifestadien

Reifestadium	Pflanzenteil	Trockenmasse
1	Körner	313
	Schröpschnitt	251
	Ganzpflanze	249
2	Körner	389
	Schröpschnitt	305
	Ganzpflanze	301
3	Körner	427
	Schröpschnitt	341
	Ganzpflanze	363
4	Körner	549
	Schröpschnitt	421
	Ganzpflanze	447
5	Körner	737
	Schröpschnitt	632
	Ganzpflanze	591

Bei nativen Erbsen fanden sich neben nicht-klassifizierten Vertretern der Familie der *Enterobacteriaceae* vorrangig *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia* und *Weissella* spp. Neben einigen Insekten bestand die eukaryotische Gemeinschaft hauptsächlich aus *Penicillium* und *Pichia* spp. (Körner), sowie nicht-klassifizierten Vertretern der Familie der *Sporidiobolaceae*, *Cladosporium* spp., *Pichia* spp. und nicht-klassifizierten Pilzen (Schröpschnitte und Ganzpflanzen). Dabei unterschied sich die Zusammensetzung der bakteriellen und der eukaryotischen epiphytischen Gemeinschaften zwischen den Varianten und zwischen den Reifestadien ($p < 0,01$) (Abbildung 5a und 5b).

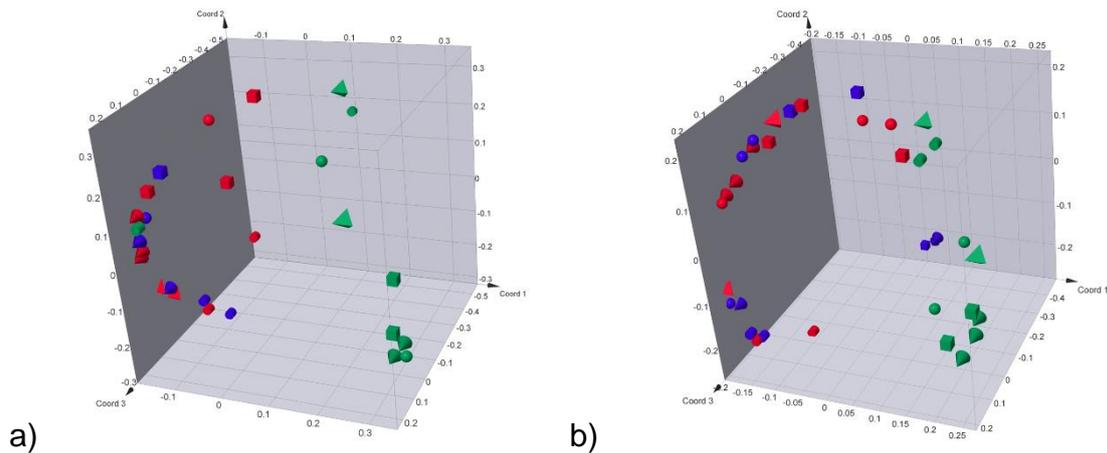


Abbildung 5: Principle coordinate analysis (PCoA) der epiphytischen bakteriellen (a) und eukaryotischen Zusammensetzung (b) nativer Erbsen auf Grundlage der Bray-Curtis-Similarity: Körner: grün; Schröpfschnitte: rot; Ganzpflanze: dunkelblau; Reifestadium 1: Kugeln; 2: Würfel; 3: Zylinder; 4: Tonnen; 5: Pyramiden; Anteil erklärter Variation: Bakterien: Coordinate 1 = 37,605%, coordinate 2 = 17,378%, coordinate 3 = 11,772%; Eukaryoten: Coordinate 1 = 28,827%, coordinate 2 = 22,105%, coordinate 3 = 10,750%

Die α -Diversität der bakteriellen Gemeinschaften (Shannon Index) unterschied sich zwischen den Reifestadien ($p < 0,001$), nicht aber zwischen den Varianten (d.h. zwischen Körnern, Schröpfschnitten und Ganzpflanzen). Bei den eukaryotischen Gemeinschaften unterschied sich die α -Diversität weder zwischen den Varianten noch zwischen den Reifestadien.

Sowohl die mikrobielle Zusammensetzung (Abbildung 6) als auch deren Diversität war durch die Silierung und die anschließende aerobe Lagerung beeinflusst ($p < 0,001$).

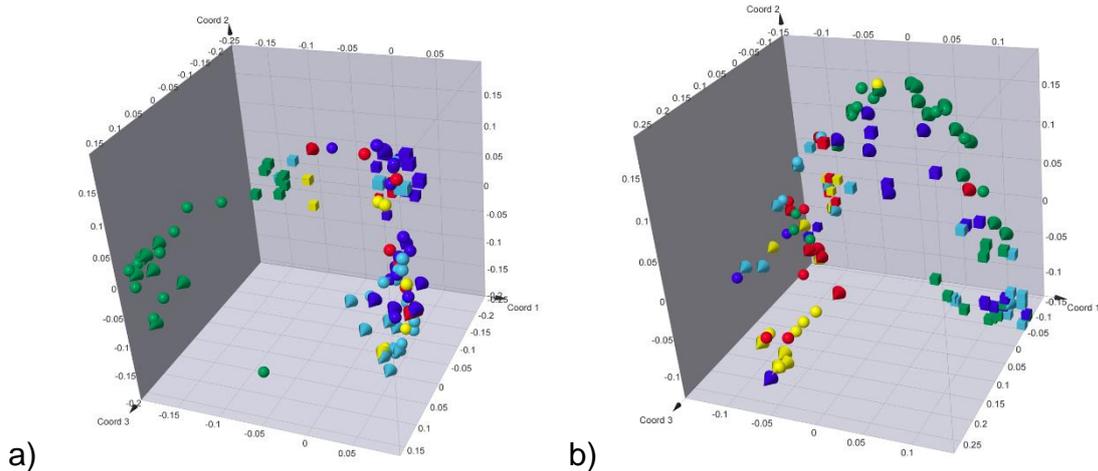


Abbildung 6: Principle coordinate analysis (PCoA) der epiphytischen bakteriellen (a) und eukaryotischen Zusammensetzung (b) von Erbsen in Abhängigkeit der Behandlung auf Grundlage der Bray-Curtis-Similarity: nativ: grün; siliert inkl. Siliermittel: dunkelblau; siliert inkl. Siliermittel nach 7 Tagen aerober Lagerung: rot; siliert ohne Siliermittel: hellblau; siliert ohne Siliermittel nach 7 Tagen aerober Lagerung: gelb; Körner: Würfel; Schröpfschnitte: Kugeln (Bakterien) bzw. Zylinder (Eukaryoten); Ganzpflanzen: Zylinder (Bakterien) bzw. Kugeln (Eukaryoten); Anteil erklärter Variation: Bakterien: Coordinate 1 = 24,600%, coordinate 2 = 12,302%, coordinate 3 = 9,527%; Eukaryoten: Coordinate 1 = 23,603%, coordinate 2 = 16,998%, coordinate 3 = 13,783%

Mit zunehmender Reife der Pflanzen nahm die Abundanz von v.a. natürlich vorkommender Laktobazillen (*Weissella*, *Pediococcus* und *Lactobacillus* spp.) zu. Dadurch konnten zumindest Erbsenschröpfschnitte und -ganzpflanzen ab dem dritten Reifestadium (siehe Tabelle 2) auch ohne Verwendung eines bakteriellen Siliermittels erfolgreich siliert werden. Allerdings führte auch hier der Einsatz des Siliermittels zu einer weiteren Reduktion von Ammoniak, Essigsäure und Butanol (Tabelle 3) und wirkte einer Reduktion der Abundanz natürlicher Laktobazillen entgegen, was sich v.a. bei der aeroben Stabilität bemerkbar machte. Frühe Reifestadien (1 und 2; siehe Tabelle 3) waren sehr anfällig für mikrobiellen Verderb und sind deshalb für eine Silierung wenig geeignet.

Tabelle 3: Siliercharakteristika und Konzentrationen an NH₃, Essigsäure und Alkoholen in Silagen [g/kg TM] aus Körnern, Schröpfschnitt und Ganzpflanze der Felderbse zu 5 Reifestadien, mit und ohne Verwendung eines Silierzusatzes

Reifestadium	Teil	Siliermittel	pH	pH _{AL}	ASTA	NH ₃	Essigsäure	Methanol	Propanol	Ethanol	Butanol
1	Körner	+	4,16	n.a.	n.a.	3,5	4,9	0,6	0,7	2,8	8,7
		-	5,74	n.a.	n.a.	6,1	8,9	0,7	0,8	3,3	21,9
	Schröpfschnitt	+	4,08	8,34	30	2,9	8,1	0,7	0,9	4,3	11,3
		-	4,13	7,41	104	4,0	14,3	0,7	0,7	4,2	5,0
	Ganzpflanze	+	4,14	8,57	25	2,3	5,5	0,7	0,7	4,5	2,2
		-	4,20	6,59	123	4,1	18,1	0,7	0,8	4,7	3,6
2	Schröpfschnitt	+	4,20	6,98	112	2,9	11,6	0,6	0,6	3,7	6,4
		-	4,34	4,47	144	2,0	13,0	0,7	0,7	3,7	10,8
	Ganzpflanze	+	4,25	7,45	111	3,2	12,1	0,7	0,6	4,0	4,2
		-	4,33	7,10	126	2,3	15,8	0,6	0,5	3,7	4,6
3	Körner	+	4,27	4,35	152	1,0	3,7	0,4	0,6	2,0	7,5
		-	4,56	4,85	168	2,4	7,2	0,4	0,5	2,1	14,4
	Schröpfschnitt	+	4,42	6,17	156	2,5	16,7	0,5	0,5	3,2	3,6
		-	4,40	4,93	138	2,0	11,7	0,6	0,7	3,0	6,8
	Ganzpflanze	+	4,43	6,42	146	1,8	13,6	n.d.	n.d.	2,4	3,2
		-	4,46	4,49	168	2,1	14,3	n.d.	n.d.	2,9	4,2
4	Körner	+	4,30	n.a.	n.a.	0,7	4,1	0,5	0,2	1,5	9,6
		-	4,64	n.a.	n.a.	1,0	3,5	0,5	0,2	1,5	18,2
	Schröpfschnitt	+	4,45	4,46	168	1,3	9,8	0,4	0,5	1,9	3,3
		-	4,73	4,78	168	1,8	16,8	0,4	0,4	2,0	6,0
	Ganzpflanze	+	4,61	4,61	168	1,4	16,5	0,3	0,4	2,2	3,4
		-	4,71	4,76	168	1,4	15,1	0,4	0,6	2,3	3,9
5	Körner	+	5,90	6,76	67	n.d.	0,6	0,3	0,1	1,0	2,0
		-	6,14	6,68	87	0,1	0,5	0,3	0,1	1,0	1,3
	Schröpfschnitt	+	4,74	4,76	168	0,7	8,9	0,4	0,1	1,6	4,7
		-	4,96	6,19	168	0,8	4,9	0,4	0,2	1,8	3,4

AL = aerobe Lagerung für 7 d, ASTA = aerobe Stabilität, n.a. = nicht analysiert (für diese Analysen stand nicht genügend Probenmaterial zur Verfügung), n.d. = nicht detektiert, ASTA ist angegeben in h bis die Temperaturdifferenz zwischen dem Material und der Umgebung auf über 3 °C ansteigt; die Reifestadien sind in Tabelle 2 definiert.

4.1.4. Elektronenmikroskopie der Stärkegranula

Granula der Erbsenstärke waren oval, nierenförmig oder von unregelmäßiger Form, hatten eine glatte Oberfläche und grenzten sich klar von den umliegenden Matrixstrukturen ab (Abbildung 7a). Die umliegende Matrix war als splitterförmige Fragmente zu erkennen, was auf die Vermahlung der Proben vor der Mikroskopie zurückzuführen ist. Die Stärkegranula hatte eine Größe von 17,9 bis 25,3 μm Länge und 8,8 bis 23,6 μm Breite. Die Silierung schien erste Veränderungen in der Form zu erzeugen, dass die scharfen Abgrenzungen zwischen Granula und Matrixfragmenten begannen sich aufzulösen (Abbildung 7b). Dies setzte sich durch die Wärmebehandlung beim Toasten fort, wurde aber erst ab einer Temperatur von 180 $^{\circ}\text{C}$ vermehrt sichtbar (Abbildung 7c). Insgesamt waren die Behandlungseffekte aber nur in geringem Umfang und tendenziell zu erkennen.

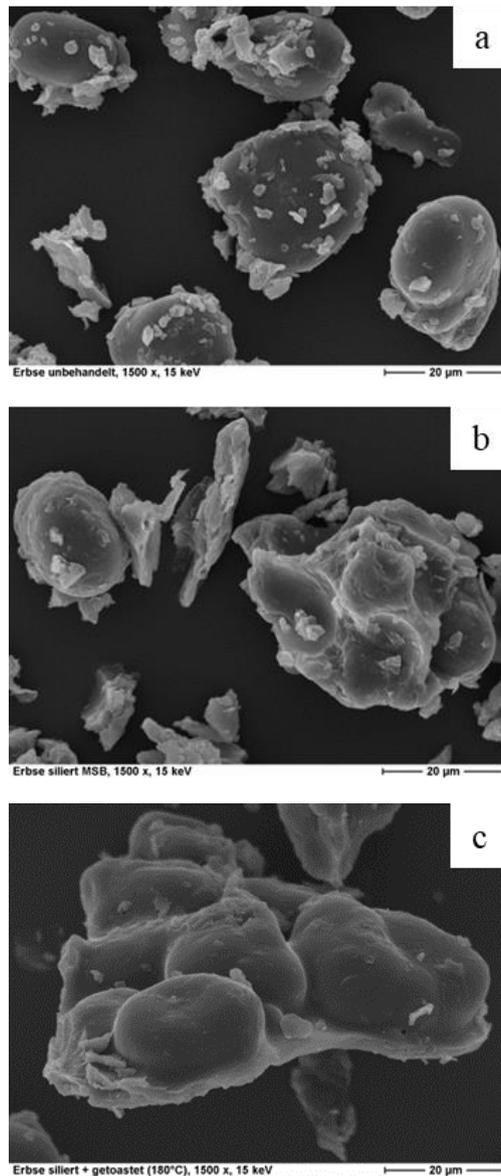


Abbildung 7: Elektronenmikroskopische Aufnahmen der Stärkegranula und Matrixstrukturen bei a) nativen Erbsenkörnern, b) silierten Erbsenkörnern und c) siliert plus getoasteten Erbsenkörnern (180 °C, 30 min)

4.1.5. Antinutritive Inhaltsstoffe

Ergänzend zur Analyse der Gehalte an inhibiertem Trypsin (Trypsininhibitoraktivität) in nativen, silierten und getoasteten Erbsenkörnern, wurde die Konzentration an weiteren wichtigen antinutritiven Inhaltsstoffen bei diesen Behandlungen und bei entsprechend behandelten Ackerbohnen, sowie an Vicin in nativen und silierten Ackerbohnen bestimmt. Der Einfluss des Silierens und des nachfolgenden Toastens auf die Gehalte antinutritiver Inhaltsstoffe ist in Tabelle 4 zusammengefasst. Die Zusammenstellung aus Proben der im Labormaßstab behandelten Materialien zeigt, dass sich die Behandlung im Wesentlichen reduzierend auf die Trypsin-inhibitoraktivität und die Vicinkonzentration auswirkte. Alle anderen untersuchten Antinutritiva hatten eine generell sehr geringe Konzentration schon im

Ausgangsmaterial, weshalb sich hier kein Effekt der Behandlung zeigte. Auch bei großtechnisch silierten und getoasteten Erbsenkörnern kam es zu einer signifikanten schrittweisen Reduktion der Trypsininhibitoraktivität (Abbildung 8). Bei den Ackerbohnen kam es unabhängig von der Sorte zu einer signifikanten Reduktion der Vicinkonzentration durch das Silieren (Abbildung 9). Es ist bekannt, dass Vicin insensibel gegenüber thermischer Behandlung ist (Khamassi et al., 2013), weshalb diese hier nicht geprüft wurde.

Tabelle 4: Konzentrationen an Phytat-P, Vicin, Convicin [g/kg Trockenmasse], Trypsininhibitoraktivität [mg inhibiertes Trypsin/g] und Tannine [%] in Erbsenkörnern und Ackerbohnenkörnern in Abhängigkeit von der Behandlung (nativ, siliert und siliert plus getoastet)

Art	Behandlung	Phytat-P [g/kg]	Vicin [g/kg]	Convicin [g/kg]	TIA	Freie Tannine	Protein-gebundene Tannine	Faser-gebundene Tannine
ER	n	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
	s (+)	1,7	< 0,1	< 0,1	1,6	0,02	0,04	0,04
	s + t (60 °C KT)	1,9	< 0,1	< 0,1	1,5	0,03	0,04	0,02
	s + t (90 °C KT)	2,2	< 0,1	< 0,1	1,1	0,04	0,18	0,06
	s + t (110 °C KT)	2,1	< 0,1	< 0,1	0,8	0,04	0,25	0,09
ER	n	2,9	< 0,1	< 0,1	1,9	0,01	0,03	0,05
	s (-)	2,8	< 0,1	< 0,1	2,2	0,02	0,06	0,05
	s (-) + t (160 °C)	2,8	< 0,1	< 0,1	1,6	0,02	0,09	0,01
	s (+)	2,2	< 0,1	< 0,1	2,2	0,01	0,04	0,06
	s (+) + t (160 °C)	3,0	< 0,1	< 0,1	1,9	0,02	0,05	0,02
AB	n	3,8	8,2	6,6	2,2	0,05	0,05	0,02
	s (+)	3,4	4,0	6,5	1,2	0,05	0,07	0,03
	s (+) + t (160 °C)	3,2	4,3	6,1	1,2	0,06	0,10	0,04

AB = Ackerbohne, ER = Erbse, t = getoastet, KT = Korntemperatur, n = nativ, n.v. = nicht verfügbar, s = siliert, TIA = Trypsininhibitoraktivität; (+) kennzeichnet die Verwendung eines bakteriellen Siliermittels, (-) kennzeichnet Silierung ohne Verwendung eines Siliermittels; Tanningehalte in %; farbliche Markierungen zeigen eine Reduktion der antinutritiven Inhaltsstoffe infolge der Behandlung.

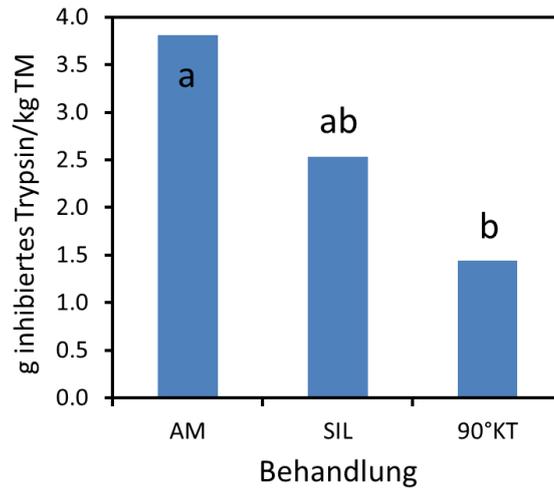


Abbildung 8: Reduktion der Trypsininhibitoraktivität in Erbsenkörnern durch silieren sowie silieren plus toasten bei 85 – 90 °C Korntemperatur (KT; bei einem Durchsatz von 100 kg/h und ca. 190 °C Einblastemperatur); der Standardfehler lag für alle Behandlungen bei 0,43, die Anzahl Freiheitsgrade bei 6; AM = Ausgangsmaterial (nativ), SIL = siliert, TM = Trockenmasse, 90 °C KT = toasten bei 90 °C KT; ^{ab} kennzeichnet Unterschiede zwischen den Behandlungen mit $p < 0,05$.

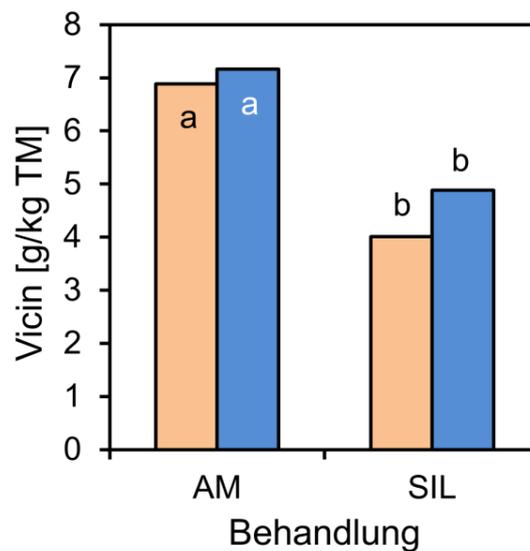


Abbildung 9: Mittelwerte der kleinsten Quadrate der Konzentration an Vicin in unbehandelten (AM) und silierten Ackerbohnen (SIL); TM = Trockenmasse; Standardfehler waren 0,55 g/kg TM; rote Balken kennzeichnen die Sorte Fanfare, blaue Balken kennzeichnen die Sorte Taufun; ^{ab} kennzeichnen Unterschiede zwischen den Behandlungen mit $p < 0,01$.

4.2. Projektabschnitt II

4.2.1. In vitro-Inkubationsversuche

In vitro-Versuch 1

Im ersten in vitro-Versuch wurde der Futterwert von Erbsen- bzw. Ackerbohnschröpfchnitt nativ, nach Silierung, nach thermischer Behandlung sowie nach kombinierter Behandlung hinsichtlich Fermentationscharakteristika und Proteinbeständigkeit untersucht. Die Kinetik der Gasproduktion wurde mit den geschätzten Parametern der Gompertz-Funktion beschrieben (Tabelle 5). Das Silieren und Toasten erhöhte sowohl bei dem Ackerbohnen- als auch bei dem Erbsenschröpfchnitt die Gasbildung. Im Gegensatz dazu verringerte die Kombination aus Silieren plus Toasten die Gasproduktion bei beiden Schröpfchnitten. Das Toasten verlangsamte die Fermentation der Kohlenhydratfraktion, während das Silieren + Toasten die Fermentation bei dem Ackerbohnschröpfchnitt und das Silieren bei dem Erbsenschröpfchnitt am stärksten beschleunigt.

Tabelle 5: Parameter der Kinetik der Gasproduktion bei nativen, silierten, getrockneten und siliert plus getrockneten Ackerbohnen- und Erbsenschröpfchnitt, die unter Verwendung der Gompertz-Funktion geschätzt wurden

	a	b	b + c	R ²
AS-n	149,00	8,55	7,40	0,997
AS-s	152,07	6,69	6,45	0,993
AS-t	160,81	8,17	7,44	0,994
AS-s+t	137,99	7,23	5,55	0,989
ES-n	179,68	5,56	5,20	0,997
ES-s	190,79	6,14	4,47	0,991
ES-t	196,88	6,81	6,21	0,995
ES-s+t	169,11	6,02	5,87	0,993

a = asymptotische maximale Gasproduktion [ml/200 mg Trockenmasse], AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpfchnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpfchnitt, b = Zeit bis 1/3 von a produziert ist [h], b + c = Zeit bis ca. 70 % von a produziert ist [h], ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliertes Erbsenschröpfchnitt, ES-t = getoasteter Erbsenschröpfchnitt, ES-s+t = siliert plus getoasteter Erbsenschröpfchnitt.

Die Verläufe der Gasbildungen sind in Abbildung 10 und Abbildung 11 veranschaulicht.

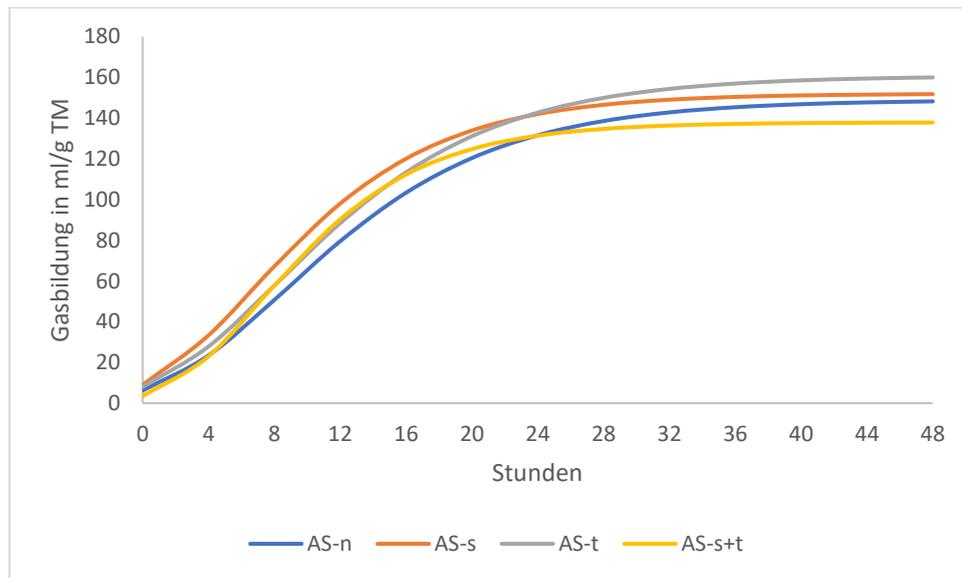


Abbildung 10: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen, silierten, getrockneten sowie siliert plus getrockneten Ackerbohnschröpfungsschnitt; AS-n = nativer Ackerbohnschröpfungsschnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpfungsschnitt, AS-s+t = siliert und getrockneter Ackerbohnschröpfungsschnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpfungsschnitt.

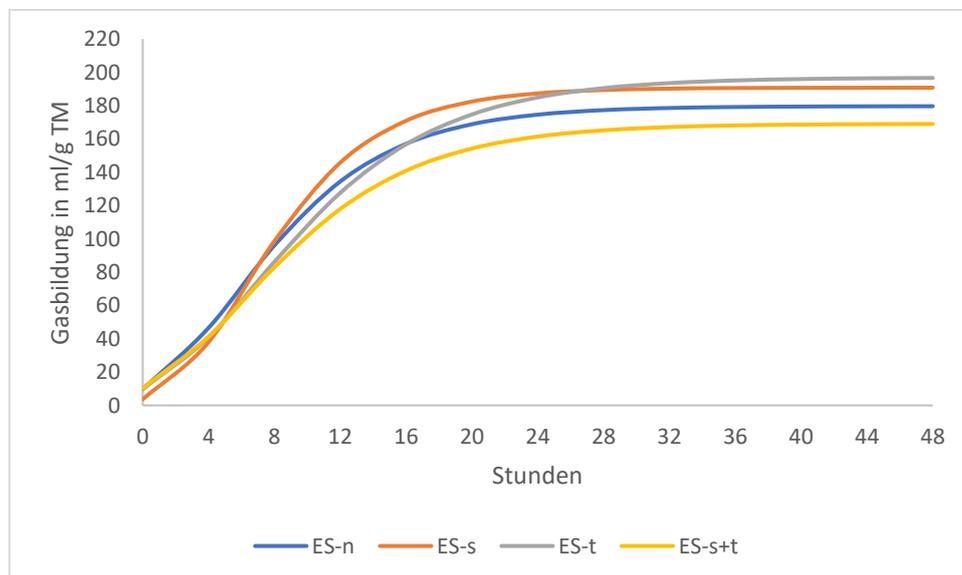


Abbildung 11: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen, silierten, getrockneten sowie siliert plus getrockneten Erbsenschröpfungsschnitt; ES-n = nativer Erbsenschröpfungsschnitt, ES-s = siliertes Erbsenschröpfungsschnitt, ES-s+t = siliert und getrockneter Erbsenschröpfungsschnitt, ES-t = getrockneter Erbsenschröpfungsschnitt.

Die in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse nach Menke und Steingass (1988) war nur geringfügig durch die unterschiedlichen Behandlungen beeinflusst (Tabelle

6). Die höchste Verdaulichkeit wurde beim Ackerbohnschröpschnitt nach 24 h bei der siliert plus getrockneten Variante mit 56,7 % und nach 48 h bei der getrockneten Variante mit 59,9 % ermittelt. Die Verdaulichkeit des Erbsenschröpschnittes war bei der silierten Variante nach 24 h (62,0 %) und nach 48 h (63,4 %) am höchsten ($p < 0,05$), während die thermische Behandlung die in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse nicht wesentlich beeinflusste.

Tabelle 6: Mittelwerte der kleinsten Quadrate der in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse [%] nach 24 und 48 h Inkubation geschätzt nach Menke und Steingass (1988)

Substrat	Verdaulichkeiten		Standardfehler	
	24 h	48 h	24 h	48 h
AS-n	55,2 ^{ba}	58,4 ^{aA}	0,55	0,55
AS-s	56,6 ^{aA}	59,3 ^{aA}	1,09	1,09
AS-t	55,5 ^{aA}	59,9 ^{aA}	1,85	1,85
A-s+t	56,7 ^{aA}	58,7 ^{aA}	1,09	1,09
ES-n	58,4 ^{aB}	60,1 ^{aB}	0,87	0,87
ES-s	62,0 ^{aA}	63,4 ^{aA}	0,69	0,69
ES-t	60,0 ^{aB}	62,8 ^{aB}	1,32	1,32
ES-s+t	56,9 ^{aB}	59,1 ^{aB}	0,83	0,83

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Inkubationszeiten mit $p < 0,05$; ^{A,B} kennzeichnen signifikante Unterschiede der Behandlungen im Vergleich zur nativen Variante mit $p < 0,05$; AS-n = nativer Ackerbohnschröpschnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnen-schröpschnitt, AS-s+t = siliert und getrockneter Ackerbohnschröpschnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpschnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpschnitt, ES-s = siliertes Erbsenschröpschnitt, ES-s+t = siliert und getrockneter Erbsenschröpschnitt, ES-t = getrockneter Erbsenschröpschnitt.

Die in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse, welche nach GfE (2016) geschätzt wurden, sind im Vergleich zu denen, die nach Menke und Steingass (1988) geschätzt wurden, größer, zeigen aber ähnliche Unterschiede zwischen den Behandlungen. Sowohl bei Ackerbohnen- als auch Erbsenschröpschnitt traten im Vergleich zwischen der nativen und den behandelten Varianten signifikante Unterschiede auf ($p < 0,05$). Auch hier steigerte die Silierung die in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse – insbesondere bei der Erbse – wobei auch die thermische Behandlung, sowohl von Grüngut als auch von Silage und insbesondere bei der Erbse, zu einer leichten Erhöhung der in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse führte.

Silierung und thermische Behandlung führten bei Erbsen- und Ackerbohnen-schröpschnitten zu einer signifikanten Erhöhung des geschätzten Gehaltes an umsetzbarer Energie ($p < 0,05$; Tabelle 7).

Tabelle 7: Mittelwerte der kleinsten Quadrate der nach GfE (2016) geschätzten Gehalte an umsetzbarer Energie [MJ/kg Trockenmasse]

Substrat	Schätzwerte		Standardfehler	
	24 h	48 h	24 h	48 h
AS-n	10,9 ^{bb}	11,0 ^{aB}	0,01	0,01
AS-s	11,1 ^{aA}	11,1 ^{bA}	0,02	0,02
AS-t	11,1 ^{bA}	11,2 ^{aA}	0,04	0,04
AS-s+t	11,2 ^{aA}	11,2 ^{aA}	0,02	0,02
ES-n	11,3 ^{aB}	11,3 ^{aB}	0,02	0,02
ES-s	12,0 ^{aA}	12,0 ^{aA}	0,01	0,01
ES-t	11,3 ^{aA}	11,4 ^{aA}	0,03	0,03
ES-s+t	11,6 ^{aA}	11,6 ^{aA}	0,02	0,02

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Inkubationszeiten mit $p < 0,05$; ^{A,B} kennzeichnen signifikante Unterschiede der Behandlungen im Vergleich zur nativen Variante mit $p < 0,05$; AS-n = nativer Ackerbohnschröpschnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpschnitt, AS-s+t = siliert und getrockneter Ackerbohnschröpschnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpschnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpschnitt, ES-s = siliertes Erbsenschröpschnitt, ES-s+t = siliert und getrockneter Erbsenschröpschnitt, ES-t = getrockneter Erbsenschröpschnitt.

Der pH-Wert verringerte sich im Laufe der Inkubation bei allen Substraten. Der initiale pH-Wert beim Ackerbohnschröpschnitt aller Varianten lag im Durchschnitt nach 2 h Inkubationszeit bei $7,42 \pm 0,004$ und sank bis 48 h Inkubationszeit auf $7,06 \pm 0,01$. Der initiale pH-Wert beim Erbsenschröpschnitt lag bei allen Varianten im Mittel nach 2 h Inkubation bei $7,36 \pm 0,06$ und nach 48 h Inkubation bei $6,99 \pm 0,004$.

Die Behandlungen führten zu unterschiedlich starken Veränderungen des mikrobiell-synthetisierten Proteins, des pansenstabilen Proteins und des nutzbaren Rohproteins am Duodenum (Tabelle 8). Pansenstabiles Protein und nutzbares Rohprotein am Duodenum waren niedriger bei siliertem Ackerbohnschröpschnitt im Vergleich zur nativen Variante. Die thermische Behandlung allein und die kombinierte Behandlung erhöhte die Gehalte an pansenstabilen Protein und an nutzbarem Rohprotein am Duodenum. Bei Erbsenschröpschnitt führten alle Behandlungen im Vergleich zur nativen Variante zu einer Erhöhung von pansenstabilem Protein und nutzbarem Rohprotein am Duodenum. Das mikrobielle Protein war insbesondere durch die Silierung oder Silierung plus Trocknung erhöht worden (Ackerbohnen), oder wurde in Folge der Behandlung reduziert oder nicht verändert (Erbsen).

Tabelle 8: Vergleich des mikrobiell synthetisierten Proteins, des pansenstabilen Proteins und des nutzbaren Rohproteins am Duodenum bei Ackerbohnen- und Erbsenschröpf schnitten in Abhängigkeit von der Behandlung zu unterschiedlichen Inkubationszeiten

	XP	2 h			4 h			8 h			24 h			48 h		
		mXP	UDP	nXP	mXP	UDP	nXP	mXP	UDP	nXP	mXP	UDP	nXP	mXP	UDP	nXP
AS-n	166	1,5	140	141	1,8	141	143	6,7	107	114	12,7	39	52	7,7	15	23
AS-s	177	4,1	120	124	2,9	130	133	8,1	105	113	14,2	20	35	7,8	26	34
AS-t	166	2,5	150	152	2,9	143	146	7,4	124	131	11,9	95	107	9,5	52	62
AS-s+t	187	5,3	134	140	1,2	163	164	7,8	127	135	15,0	45	60	9,0	30	39
ES-n	147	3,4	98	101	5,6	86	92	14,9	38	53	*	*	*	9,8	3	13
ES-s	163	3,6	105	109	4,8	102	106	10,2	71	81	*	*	*	*	*	*
ES-t	162	3,8	128	131	3,2	146	149	9,4	127	137	16,8	39	56	11,8	9	21
ES-s+t	162	3,4	123	126	5,1	122	127	14,9	80	95	18,4	16	34	6,6	48	55

* nicht bestimmt, AS-n = nativer Ackerbohnschröpf schnitt, AS-s = siliierter Ackerbohnschröpf schnitt, AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpf schnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpf schnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpf schnitt, ES-s = siliierter Erbsenschröpf schnitt, ES-s+t = siliert plus getrockneter Erbsenschröpf schnitt, ES-t = getrockneter Erbsenschröpf schnitt, mXP = mikrobielles Protein, nXP = nutzbares Rohprotein am Duodenum, UDP = pansenstabilen Protein, XP = Rohprotein; alle Angaben in g/kg Trockenmasse.

In vitro-Versuch 2

Der zweite in vitro-Versuch wurde begleitend zum zweiten Standardverdauungsversuch (siehe unten) unter Verwendung der gleichen Substrate – d.h. nativer bzw. silierter Erbsen- und Ackerbohnschröpschnitt aus großtechnischer Produktion – durchgeführt. Ergänzend zu den Analysen des LfULG wurden die hierfür beprobten Chargen an Grüngut sowie Ballensilagen hinsichtlich Nährstoffzusammensetzung und Energiegehalt charakterisiert (Tabelle 9).

Die gemessenen Silierparameter sind in Tabelle 10 zusammengefasst

Tabelle 9: Nährstoffzusammensetzung [g/kg Trockenmasse] und Energiegehalt [MJ/kg Trockenmasse] nativer und silierter Erbsen- und Ackerbohnschröpschnitte

	TM	OM	XP	XL	XF	aNDFom	ADFom	ADL	NFE	GE
AS-n	427	932	196	12	190	307	272	36	535	16,9
AS-s	443	929	189	12	203	296	269	33	525	16,9
AS-s ¹	436	926	188	12	238	343	303	40	488	17,5
ES-n	500	920	114	10	286	375	303	40	511	16,4
ES-s	575	940	152	13	213	312	258	30	563	17,1

ADFom = saure Detergenzienfaser (aschefrei), ADL = saures Detergenzienlignin, aNDFom = neutrale Detergenzienfaser (mit Amylase behandelt und aschefrei), AS-n = nativer Ackerbohnschröpschnitt, AS-s = silierter Ackerbohnschröpschnitt, AS-s¹: silierter Ackerbohnschröpschnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpschnitt, ES-s = silierter Erbsenschröpschnitt, GE = Bruttoenergie, OM = organische Masse, NFE = N-freie Extraktstoffe, TM = Trockenmasse, XA = Rohasche, XF = Rohfaser, XL = Rohfett, XP = Rohprotein.

Tabelle 10: Qualitätsparameter der untersuchten Silagen [g/kg TM]

	Korr. TM	pH	MS	ES	PS	i-BS	n-BS	i-VS	n-VS	n-CS	NH ₃ -N
AS-s	417	4,27	76,7	21,4	0,37	<0,02	<0,03	0,05	0,05	<0,01	2,3
AS-s ¹	420	4,30	71,1	23,0	0,40	<0,02	<0,03	0,05	0,07	<0,01	2,3
ES-s	544	4,08	56,3	16,8	0,04	<0,02	<0,03	<0,05	0,04	<0,01	1,5

AS-s = silierter Ackerbohnschröpschnitt, AS-s¹: silierter Ackerbohnschröpschnitt aus Wiederholungsversuch; ES-s = silierter Erbsenschröpschnitt, ES = Essigsäure, i-BS = i-Buttersäure, i-VS = i-Valeriansäuren, korr. TM = korrigierte Trockenmasse, MS = Milchsäure, n-BS = n-Buttersäure, n-CS = n-Caprinsäure, NH₃-N = Ammoniak-N, n-VS = n-Valeriansäuren, PS = Propionsäure.

Die Kinetik der Gasproduktion wurde mit den geschätzten Parametern der Gompertz-Funktion beschrieben (Tabelle 11). Bei der Erbse stieg die maximale Gasproduktion nach der Silierung deutlich an; die Fermentation der Kohlenhydratfraktion verlangsamte sich aber. Zwischen den Varianten des Ackerbohnschröpfchnittes unterschied sich die maximale Gasproduktion nur geringfügig; die Silierung beschleunigte die Fermentation.

Tabelle 11: Parameter der Kinetik der Gasproduktion bei nativen und silierten Erbsen- und Ackerbohnschröpfchnitt, die unter Verwendung der Gompertz-Funktion geschätzt wurden

	a	b	b + c	R ²
AS-n	144	7,4	12,8	0,996
AS-s	145	6,4	11,0	0,997
ES-n	121	6,3	10,3	0,994
ES-s	156	7,2	11,7	0,997

a = asymptotische maximale Gasproduktion [ml/g Trockenmasse], AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpfchnitt, b = Zeit bis 1/3 von a produziert ist [h], b + c = Zeit bis ca. 70 % von a produziert ist [h], ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliertes Erbsenschröpfchnitt

Die mit Hilfe der Gompertz-Funktion aus den gemessenen Daten modellierten Gasbildungsverläufe über die Inkubationsperiode sind in Abbildung 12 dargestellt.

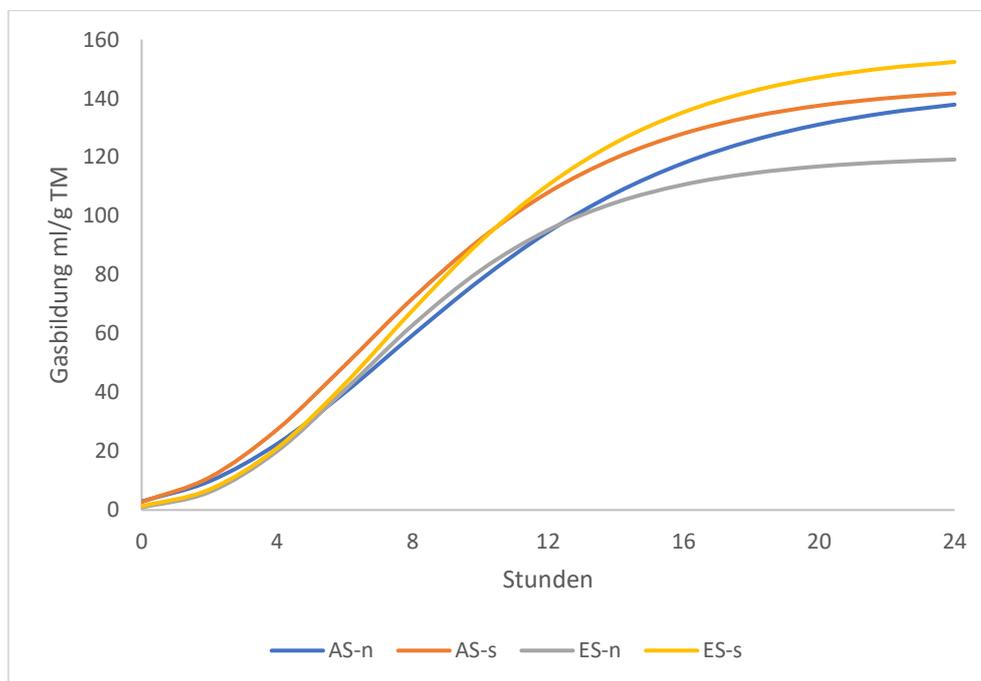


Abbildung 12: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen und silierten Erbsen- und Ackerbohnschröpfchnitt; AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpfchnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliertes Erbsenschröpfchnitt

Der pH-Wert verringerte sich im Verlauf der Inkubation von maximal 7,38 (siliertes Ackerbohnschröpfchnitt) nach 2 h zu minimal 6,94 (siliertes Erbsenschröpfchnitt) nach 24 h, unterschied sich aber nicht zwischen den Behandlungen.

Die in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse, geschätzt nach Menke und Steingass (1988) sowie nach GfE (2016), sind vergleichend in Abbildung 13 dargestellt. Die Silierung der Schröpfchnitte führte zu einer numerisch geringfügigen Erhöhung der Verdaulichkeit, die bei dem Erbsenschröpfchnitt – nach GfE (2016) – signifikant war ($p < 0,05$).

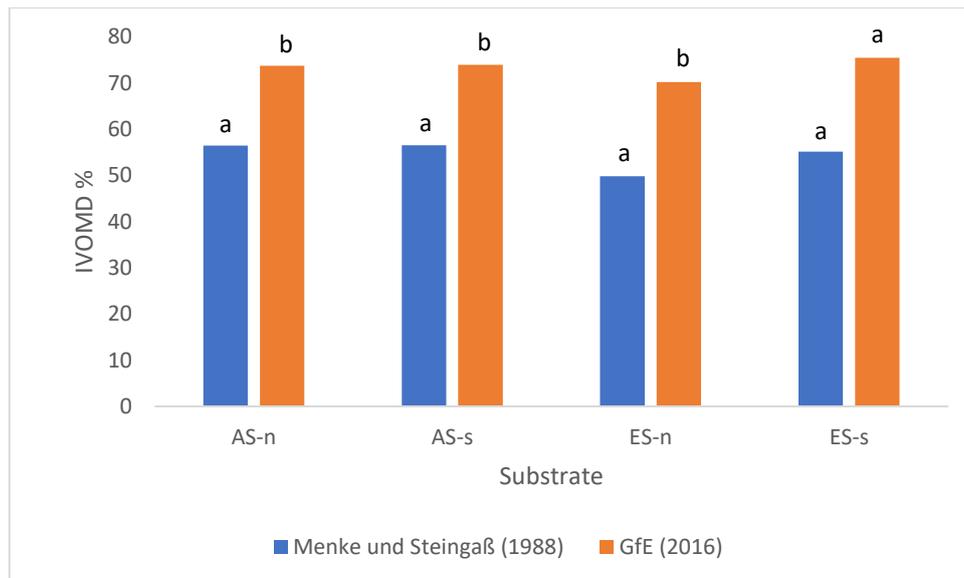


Abbildung 13: Vergleich der in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse (IVOMD) von nativen und silierten Erbsen- und Ackerbohnschröpfchnitt nach Menke und Steingass (1988) und nach GfE (2016); ^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede der Behandlung im Vergleich zur nativen Variante ($p < 0,05$); AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpfchnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliertes Erbsenschröpfchnitt

Der Gehalt an umsetzbarer Energie stieg beim Erbsenschröpfchnitt nach Silierung um 0,86 MJ/kg Trockenmasse ($p < 0,05$) und beim Ackerbohnschröpfchnitt um 0,03 MJ/kg Trockenmasse ($p > 0,05$).

Die ermittelten Gehalte an pansenstabilen Protein, mikrobiell synthetisiertem Protein und nutzbarem Rohprotein am Duodenum sind in Tabelle 12 zusammengefasst. Das Silieren des Ackerbohnschröpfchnittes führte zu einem geringeren Gehalt an pansenstabilen Protein infolge proteolytischer Prozesse, während es sich bei dem Erbsenschröpfchnitt erhöhte. Demzufolge waren die Gehalte an nutzbarem Rohprotein am Duodenum kongruent verändert. Das mikrobielle Protein stieg scheinbar bei der Ackerbohne, sank hingegen bei der Erbse oder war durch die Silierung nicht verändert.

Tabelle 12: Gehalte an Rohprotein, pansenstabilen Protein, mikrobiell synthetisierten Protein und nutzbarem Rohprotein am Duodenum bei nativen und silierten Erbsen- und Ackerbohnschröpfchnitt zu unterschiedlichen Inkubationszeiten

	XP	2h			4h			8h			24h		
		mXP	UDP	nXP	mXP	UDP	nXP	mXP	UDP	nXP	mXP	UDP	nXP
AS-n	196	*	*	*	6,9	141	148	7,9	128	136	13,0	86	99
AS-s	189	*	*	*	9,2	113	122	*	*	*	14,8	56	71
ES-n	114	1,0	84	85	7,6	63	71	14,8	22	36	9,4	50	59
ES-s	152	*	*	*	7,6	94	102	4,9	103	108	11,6	74	86

* nicht bestimmt, AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpfchnitt, ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliertes Erbsenschröpfchnitt, mXP = mikrobielles Protein, nXP = nutzbares Rohprotein am Duodenum, UDP = pansenstabilen Protein, XP = Rohprotein; alle Angaben in g/kg Trockenmasse.

In vitro-Versuch 3

Der dritte *in vitro*-Versuch wurde durchgeführt, um, am Beispiel von Ackerbohnen-schröpfungsschnitten neben dem Behandlungseffekt auf *in vitro*-Fermentationscharakteristika auch den Effekt des Reifestadiums (Ernte bei 50 bzw. 70 % Korntrockenmasse) zu berücksichtigen.

Die geschätzten Parameter der Kinetik der Gasproduktion sind in Tabelle 13 zusammengefasst; die Verläufe in den Abbildungen 14 (Reifestadium 50 % Korntrockenmasse) und 15 (Reifestadium 70 % Korntrockenmasse) dargestellt. Weder die Behandlung, noch die Abreife hatten einen deutlich erkennbaren Effekt auf die Dynamik der Gasbildung im Batch-Kultur System. Die thermische Behandlung führte zu einer leichten Erhöhung der maximalen Gasmenge sowie scheinbar zu einer Beschleunigung der Fermentation.

Tabelle 13: Parameter der Kinetik der Gasproduktion bei nativen, silierten, getrockneten und siliert plus getrockneten Ackerbohnen-schröpfungsschnitt, die unter Verwendung der Gompertz-Funktion geschätzt wurden

Substrat	a	b	b + c	R ²
AS-n50	33,2	7,6	14,2	0,992
AS-s50	33,0	6,4	12,2	0,993
AS-t50	36,7	8,0	15,8	0,996
AS-s+t50	34,0	6,7	13,2	0,994
AS-n70	32,8	7,7	14,7	0,994
AS-s70	34,7	7,8	14,7	0,995
AS-t70	31,8	8,7	17,1	0,994
AS-s+t70	36,1	8,7	17,4	0,997

a = asymptotische maximale Gasproduktion [ml/200 mg Trockenmasse], AS-n50 = nativer Ackerbohnen-schröpfungsschnitt (50 % Trockenmasse), AS-s50 = siliertes Ackerbohnen-schröpfungsschnitt (50 % Trockenmasse), AS-t50 = getrockneter Ackerbohnen-schröpfungsschnitt (50 % Trockenmasse), AS-s+t50 = siliert plus getrockneter Ackerbohnen-schröpfungsschnitt (50 % Trockenmasse), AS-n70 = nativer Ackerbohnen-schröpfungsschnitt (70 % Trockenmasse), AS-s70 = siliertes Ackerbohnen-schröpfungsschnitt (70 % Trockenmasse), AS-t70 = getrockneter Ackerbohnen-schröpfungsschnitt (70 % Trockenmasse), AS-s+t70 = siliert plus getrockneter Ackerbohnen-schröpfungsschnitt (70 % Trockenmasse), b = Zeit bis 1/3 von a produziert ist [h], b + c = Zeit bis ca. 70 % von a produziert ist [h].

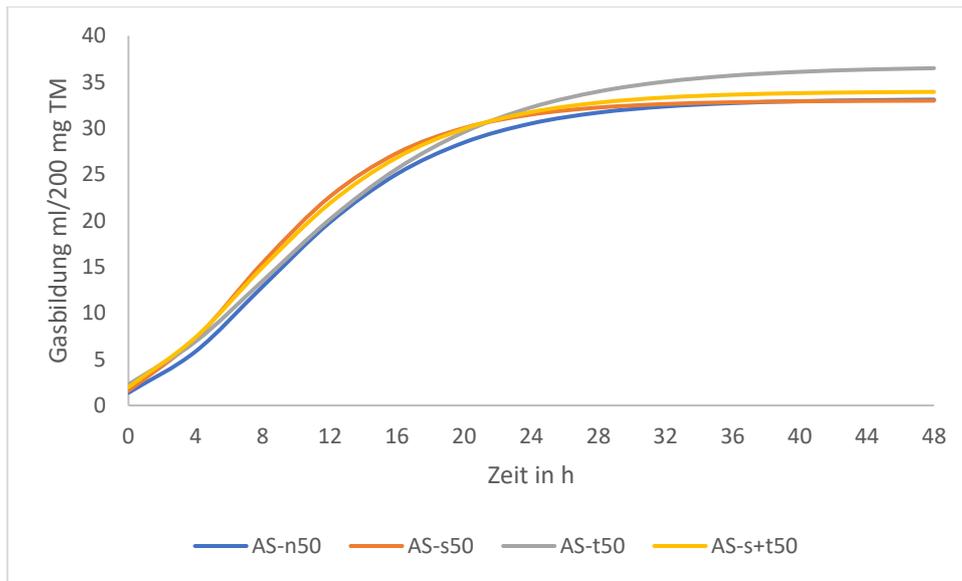


Abbildung 14: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen, silierten, getrockneten sowie siliert plus getrockneten Ackerbohnschröpschnitt mit 50% Korntrockenmasse, TM); AS-n50 = nativer Ackerbohnschröpschnitt (50 % TM), AS-s50 = siliertes Ackerbohnschröpschnitt (50 % TM), AS-t50 = getrockneter Ackerbohnschröpschnitt (50 % TM), AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpschnitt (50 % TM)

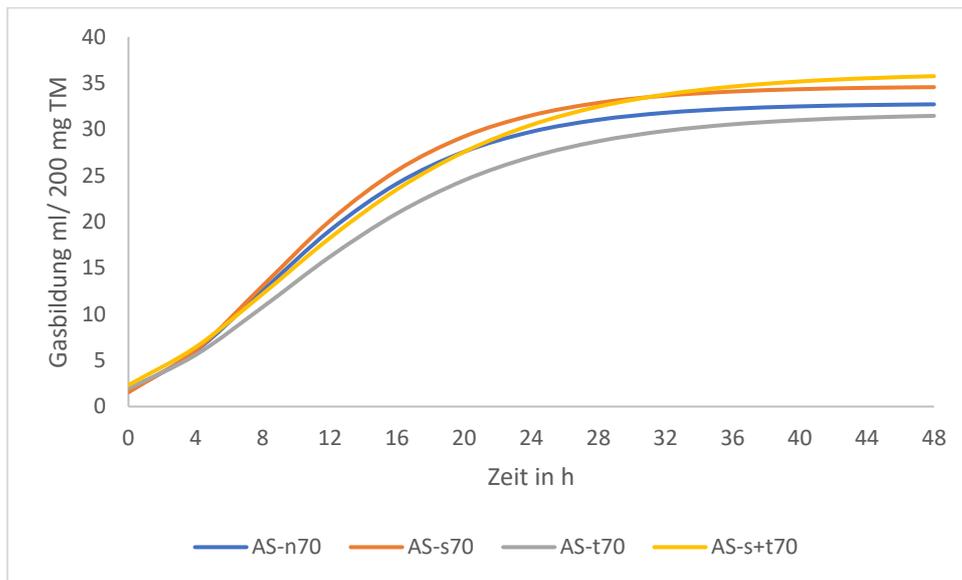


Abbildung 15: Mit der Gompertz-Funktion modellierte Gasbildungsverläufe nach Inkubation von nativen, silierten, getrockneten sowie siliert plus getrockneten Ackerbohnschröpschnitt mit 70 % Korntrockenmasse, TM); AS-n70 = nativer Ackerbohnschröpschnitt (70 % TM), AS-s70 = siliertes Ackerbohnschröpschnitt (70 % TM), AS-t70 = getrockneter Ackerbohnschröpschnitt (70 % TM), AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpschnitt (70 % TM)

Die unterschiedlichen Behandlungen der Substrate hatten nur einen geringen Einfluss auf den pH-Wert im Inokulationsmedium nach 48 h Inkubation.

Behandlungseffekte auf die nach Menke und Steingass (1988) geschätzte in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse waren nicht erkennbar, allenfalls eine leichte numerische Erhöhung, v.a. bei 50 % Korntrockenmasse und nach der Silierung (Tabelle 14).

Tabelle 14: Mittelwerte der kleinsten Quadrate der in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse [%] nach 24 und 48 h Inkubation geschätzt nach Menke und Steingass (1988)

Substrat	Verdaulichkeiten		Standardfehler	
	24 h	48 h	24 h	48 h
AS-n50	56,9 ^{aA}	61,2 ^{aA}	2,24	2,25
AS-s50	58,7 ^{aA}	61,9 ^{aA}	2,24	2,25
AS-t50	58,4 ^{bA}	63,7 ^{aA}	2,24	2,25
AS-s+t50	59,1 ^{aA}	62,9 ^{aA}	2,24	2,25
AS-n70	55,9 ^{aA}	60,1 ^{aA}	2,24	2,25
AS-s70	58,3 ^{bA}	62,7 ^{aA}	2,24	2,25
AS-t70	52,9 ^{bA}	58,1 ^{aA}	2,24	2,25
AS-s+t70	58,0 ^{bA}	62,7 ^{aA}	2,24	2,25

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Inkubationszeiten mit $p < 0,05$; ^{A,B} kennzeichnen signifikante Unterschiede der Behandlungen im Vergleich zur nativen Variante mit $p < 0,05$; 50 = Reifestadium mit 50 % Korntrockenmasse, 70 = Reifestadium mit 70 % Korntrockenmasse, AS-n = nativer Ackerbohnschröpschnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpschnitt, AS-s+t = siliert und getrockneter Ackerbohnschröpschnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpschnitt.

Ein sehr ähnliches Bild zeichnen die nach GfE (2016) berechneten in vitro-Verdaulichkeiten der organischen Masse. Die höchste Verdaulichkeit wurde bei den silierten Varianten ermittelt, welche sich zu beiden Reifestadien signifikant von der nativen Variante unterscheiden ($p < 0,05$). Erfolgte die thermische Behandlung durch Heißlufttrocknen ohne vorherige Silierung des Materials, führte dies zu signifikant verringerter in vitro-Verdaulichkeit der organischen Masse ($p < 0,05$).

Die nach GfE (2016) geschätzten Gehalte an umsetzbarer Energie sind in Abbildung 16 dargestellt. Bei beiden Reifestadien wiesen die silierten und die siliert plus getrockneten Ackerbohnschröpschnitte die im Vergleich zur nativen Variante höchsten Gehalte an umsetzbarer Energie auf.

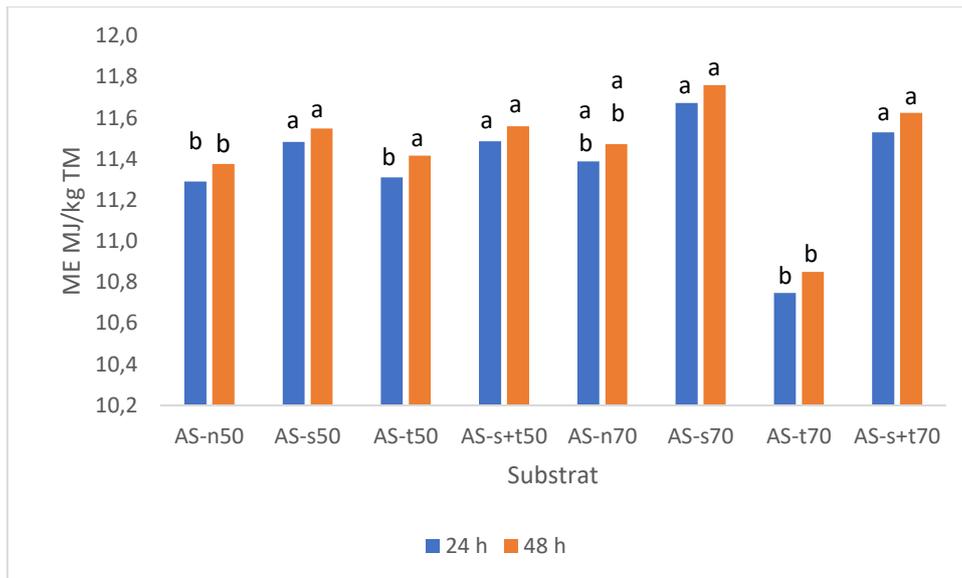


Abbildung 16: Mittelwerte der kleinsten Quadrate der nach GfE (2016) geschätzten Gehalte an umsetzbarer Energie [MJ/kg Trockenmasse]; ^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede der Behandlung im Vergleich zur nativen Variante ($p < 0,05$); 50 = Reifestadium mit 50 % Korntrockenmasse, 70 = Reifestadium mit 70 % Korntrockenmasse, AS-n = nativer Ackerbohnschröpfungsschnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpfungsschnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpfungsschnitt, AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpfungsschnitt, ME = umsetzbare Energie, TM = Trockenmasse

Streptomyces griseus Protease-Test

Tabelle 15 zeigt die geschätzten effektiven Gehalte an pansenstabilen Protein für angenommene ruminale Passageraten von 2, 5 und 8 % je h. Die effektiven Gehalte an pansenstabilen Protein der Ackerbohnschröpfungsschnitte waren für alle Passageraten größer als die der Ackerbohne (Korn) und der Grassilage, welche als Vergleichssubstrate co-inkubiert wurden. Bei den Ackerbohnschröpfungsschnitten erhöhte die thermische Behandlung des Grünguts (bei 50 % Korntrockenmasse) bzw. die Kombination aus Silieren und Trocknen (bei 70 % Korntrockenmasse) den Gehalt an pansenstabilen Protein; die Silierung verminderte diesen.

Tabelle 15: Gehalte an Rohprotein [g/kg Trockenmasse] und effektive Gehalte an pansenstabilem Protein [g/kg Trockenmasse] für ruminale Passageraten von 2, 5 und 8 %/h

Substrat	XP	eUDP ₂	eUDP ₅	eUDP ₈
AS-n50	194,9	95,7	96,4	96,8
AS-s50	201,7	84,5	85,8	86,4
AS-t50	193,9	115,9	122,9	126,3
AS-s+t50	209,9	88,6	99,6	105,3
AS-n70	187,43	91,9	90,8	90,3
AS-s70	206,12	93,0	93,5	93,7
AS-t70	163,18	93,1	96,5	98,2
AS-s+t70	201,07	109,6	117,3	121,8
AB (Korn)	267,0	79,0	82,0	83,5
Grassilage	153,0	29,2	33,5	35,7

50 = Reifestadium mit 50% Korntrockenmasse, 70 = Reifestadium mit 70% Korntrockenmasse, AB = Ackerbohne, AS-n = nativer Ackerbohnschröpfschnitt, AS-s = siliertes Ackerbohnschröpfschnitt, AS-t = getrockneter Ackerbohnschröpfschnitt, AS-s+t = siliert plus getrockneter Ackerbohnschröpfschnitt, eUDP = effektives pansenstabile Protein für Passageraten von 2% (eUDP₂), 5% (eUDP₅) und 8% je h (eUDP₈), XP = Rohprotein; rot markierte Angaben müssen als nicht plausibel angesehen werden

4.2.2. Standardverdauungsversuche

Versuch 1

Vorbereitend wurde ein erster Standardverdauungsversuch mit silierten bzw. siliert plus technisch getrockneten Erbsenschröpfschnitten durchgeführt. Die Verdaulichkeitskoeffizienten von Energie, der organischen Masse und der Rohnährstoffe sind in Tabelle 16 zusammengefasst. Es ergaben sich keinerlei Unterschiede zwischen den Behandlungen. Bereits die Silierung führte zu einem deutlichen Anstieg des Nicht-Protein-N um 44,4 %-Punkte, wodurch der Anteil des löslichen Proteins stieg (von 58 auf 77 %). Die nachfolgende thermische Behandlung durch das Heißlufttrocknen hatte dann keinen Effekt mehr. Schließlich wurde auch hinsichtlich der Gehalte an umsetzbarer Energie und an Nettoenergie Laktation keine weitere Veränderung registriert (10,7 vs. 10,5 MJ umsetzbare Energie/kg Trockenmasse und 6,4 vs. 6,3 MJ Nettoenergie Laktation/kg Trockenmasse bei siliertem vs. siliert plus getrocknetem Erbsenschröpfschnitt; $p > 0,05$).

Tabelle 16: Mittelwerte der Verdaulichkeitskoeffizienten siliierter und siliert plus getrockneter Erbsenschröpfchnitte

	OM	XA	XP	XL	XF	aNDFom	ADFom	NFE	GE
ES-s	0,75 (0,023)	0,42 (0,086)	0,81 (0,046)	0,49 (0,11)	0,53 (0,048)	0,53 (0,039)	0,57 (0,040)	0,86 (0,023)	0,73 (0,020)
ES-s+t	0,74 (0,014)	0,42 (0,085)	0,81 (0,025)	0,41 (0,064)	0,57 (0,058)	0,57 (0,029)	0,61 (0,050)	0,84 (0,022)	0,72 (0,013)

ADFom = saure Detergenzienfaser (aschefrei), ADL = saures Detergenzienlignin, aNDFom = neutrale Detergenzienfaser (mit Amylase behandelt und aschefrei), AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, ES-s = siliierter Erbsenschröpfchnitt, ES-s+t = siliierter plus getoasteter Erbsenschröpfchnitt, GE = Bruttoenergie, OM = organische Masse, NFE = N-freie Extraktstoffe, XF = Rohfaser, XL = Rohfett, XP = Rohprotein; Standardfehler sind in Klammern gegeben.

Versuch 2

Nach der Analyse und Auswertung der Verdaulichkeitsquotienten zeigte sich, dass vor allem beim Erbsenschröpfchnitt signifikante Unterschiede zwischen der nativen und der silierten Variante auftraten ($p < 0,05$; Tabelle 17). Die Verdaulichkeit des Rohproteins wurde durch die Silierung leicht aber signifikant erhöht, die Verdaulichkeit der Faser hingegen sank geringfügig. Beim Ackerbohnschröpfchnitt führte die Silierung zu keiner Veränderung der Verdaulichkeit der Nährstoffe, der organischen Masse oder der Energie.

Tabelle 17: Mittelwerte der kleinsten Quadrate der Verdaulichkeitskoeffizienten der Rohnährstoffe aus Erbsen- und Ackerbohnschröpfchnitten in nativer bzw. siliierter Form

	OM	XP	XL	XF	aNDFom	ADFom	ADL	NFE	GE
AS-n	0,88 (0,03)	0,88 (0,01)	0,87 (0,02)	0,78 (0,09)	0,78 (0,09)	0,79 (0,06)	0,36 (0,05)	0,92 (0,07)	0,88 (0,51)
AS-s	0,87 (0,03)	0,87 (0,08)	0,82 (0,02)	0,80 (0,07)	0,79 (0,07)	0,79 (0,06)	0,39 (0,04)	0,92 (0,06)	0,87 (0,51)
ES-n	0,85 (0,04)	0,84 ^b (0,019)	0,55 ^b (0,02)	0,77 ^a (0,01)	0,76 ^a (0,01)	0,77 ^a (0,06)	0,32 (0,06)	0,90 (0,09)	0,84 (0,59)
ES-s	0,85 (0,04)	0,87 ^a (0,02)	0,65 ^a (0,02)	0,68 ^b (0,01)	0,70 ^b (0,01)	0,72 ^b (0,069)	0,35 (0,07)	0,91 (0,01)	0,84 (0,59)

^{a,b} kennzeichnen signifikante Unterschiede bei $p < 0,05$; ADFom = saure Detergenzienfaser (aschefrei), ADL = saures Detergenzienlignin, aNDFom = neutrale Detergenzienfaser (mit Amylase behandelt und aschefrei), AS-n = nativer Ackerbohnschröpfchnitt, AS-s = siliierter Ackerbohnschröpfchnitt aus Wiederholungsversuch, ES-n = nativer Erbsenschröpfchnitt, ES-s = siliierter Erbsenschröpfchnitt, GE = Bruttoenergie, OM = organische Masse, NFE = N-freie Extraktstoffe, XF = Rohfaser, XL = Rohfett, XP = Rohprotein; Standardfehler sind in Klammern gegeben.

Die Schröpfchnitte der Ackerbohne bzw. Erbse hatten 12,6 bzw. 11,6 MJ umsetzbare Energie/kg Trockenmasse als native und 12,3 bzw. 12,1 MJ/kg Trockenmasse als

silierte Variante. Die Gehalte an Nettoenergie Laktation waren entsprechend 8,1 bzw. 7,3 MJ/kg Trockenmasse nativ und 7,8 bzw. 7,6 MJ/kg Trockenmasse siliert. Es gab keinen Unterschied zwischen nativer und siliertes Variante.

5. Diskussion der Ergebnisse

Gasbildung und weitere Fermentationscharakteristika

Die Silierung, sowohl von Erbsen- und Ackerbohnenkörnern, als auch von Erbsen- und Ackerbohnen Schröpschnitten führte zu einer leichten Erhöhung der Gasproduktion. Die Silierung fördert den Abbau von Stärke und anderen löslichen Kohlenhydraten und stellt so für Pansenmikroben leicht fermentierbare Substrate bereit (Gefrom et al., 2013). Die Stärkefraktion ist bei Leguminosen hingegen sehr resistent gegenüber Hitzeeinwirkung (Yu et al., 2002). In allen Untersuchungen im Rahmen dieses Projekts wurde kein wesentlicher Einfluss der thermischen Behandlung auf die Gasproduktion oder andere Charakteristika der Kohlenhydratfermentation beobachtet.

Beständigkeit des Futterproteins im Pansen

In nativen Erbsenkörnern liegen Speicherproteine vorrangig in Form von Globulinen (namentlich 7S Vicilin und 11S Legumin) vor, welche im Verdauungstrakt an sich schon sehr leicht löslich sind (Duranti, 2006). Vergleichsdaten zu in vitro-Schätzungen von nutzbarem Rohprotein am Duodenum oder pansenstabilen Protein liegen – auf Basis gleicher Methoden – kaum vor. Masoero et al. (2005) verwendeten den *S. griseus* Proteasetest und schätzten 13 bzw. 18 % pansenstabilen Protein anteilig am Rohprotein in Erbsen- bzw. Ackerbohnenkörnern, was ähnlich zu den vorliegenden Ergebnissen war. Die in dieser Untersuchung in vitro ermittelten Gehalte an nutzbarem Rohprotein am Duodenum und an pansenstabilen Protein nativer Erbsen- und Ackerbohnenkörner lagen im Bereich der in den DLG-Futterwerttabellen zusammengefassten in situ-Daten oder waren etwas höher (DLG, 1997). Hinsichtlich der Gehalte an nutzbarem Rohprotein am Duodenum und pansenstabilen Protein sind sowohl Erbsen- als auch Ackerbohnenkörner konkurrenzfähig gegenüber Sojaextraktionsschrot oder Rapsextraktionsschrot (DLG, 1997; NRC, 2001).

Bei Erbsen- und Ackerbohnenkörnern stieg der Gehalt der Nicht-Protein-N Fraktion in Folge der Silierung um knapp 50 %, gleichzeitig erhöhten sich aber auch die Anteile der schwer-löslichen Proteinfractionen sehr deutlich. Infolgedessen verringerte sich der Anteil des löslichen Proteins am Rohprotein und der Gehalt an pansenstabilen Protein stieg.

Thermische Behandlung wird im Allgemeinen eingesetzt, um den ruminalen Proteinabbau zu begrenzen (Goelema et al., 1998; Goelema et al., 1999; Theurer et al., 1999; Aufrère et al., 2001; Azarfar et al., 2008). Dabei beeinflussen neben der Temperatur und der Behandlungsdauer v.a. Art, Menge und Feuchtegehalt des Futtermittels den Behandlungserfolg, denn eine übermäßige Hitzebehandlung führt zur Proteinschädigung (Yu et al., 2002). Die kombinierte Behandlung (d.h. Silierung

und anschließendes Toasten) führten zu einem signifikanten Anstieg des pansenstabilen Proteins, wobei dies bei den Erbsenkörnern wesentlich stärker ausgeprägt war als bei den Ackerbohnen. Die Gehalte an nutzbarem Rohprotein am Duodenum veränderten sich kaum. Zumindest rechnerisch verringerte sich dadurch der Anteil an mikrobiell synthetisiertem Protein. Die mikrobielle Proteinsynthese war vermutlich sowohl durch die Verfügbarkeit von N als auch von Energie limitiert (Focant et al., 1990). Erfolgte das Toasten ohne vorherige Silierung zeigten sich keine Effekte auf das Protein. Effekte werden also durch eine hydro-thermische, weniger durch eine thermische Behandlung allein erzielt (Masoero et al., 2005).

Ähnlich wie bei Erbsenkörnern und entgegen der Erwartungen aus Literatur (Mustafa und Seguin, 2003) und eigenen Untersuchungen stieg der Gehalt an pansenstabilen Protein und infolgedessen an nutzbarem Rohprotein am Duodenum bei den Erbsenschröpschnitten mit 40 % Trockenmasse nach Silierung an. Die thermische Behandlung verbesserte die ruminale Proteinbeständigkeit zusätzlich. Bei Ackerbohnschröpschnitten führte die Silierung zu Proteolyse und einem Anstieg der Nicht-Protein-N Fraktion, wie dies bei Ganzpflanzensilagen bereits beschrieben wurde (Mustafa und Seguin, 2003). Als Konsequenz wurde der Anteil an pansenstabilem Protein verringert. In Abhängigkeit vom Reifestadium – und damit vom Feuchtegehalt des Grünguts – erhöhte die thermische Behandlung ohne vorheriges Silieren (bei 50 % Korntrockenmasse) oder die thermische Behandlung nach vorherigem Silieren (bei 70 % Korntrockenmasse) das pansenstabile Protein.

Die Ergebnisse deuten auf einen nur geringen Einfluss des Silierens und der thermischen Behandlung auf die mikrobielle Proteinsynthese hin, was dazu führt, dass die Erhöhung des Anteils an pansenstabilen Protein auch das nutzbare Rohprotein am Duodenum erhöht.

Verdaulichkeit von Nährstoffen und der Energie

Native Erbsenkörner hatten eine, zu früheren Untersuchungen vergleichbare, hohe Verdaulichkeit der organischen Masse, der Energie und der Rohnährstoffe (DLG, 1997). Mit Ausnahme der Verdaulichkeit von Rohfett und neutraler Detergenzienfaser gab es keinen Unterschied zwischen nativen und siliert plus getoasteten Erbsenkörnern. Die Verdaulichkeit der erstgenannten stieg in Folge der kombinierten Behandlung um etwa 10 %. Dies war vermutlich zum einen auf die sehr geringen Fettgehalte in den Erbsen und im Kot zurückzuführen, wodurch sich der analytische Fehler erhöhte, und zum anderen darauf, dass durch die Behandlung das neutrale Detergenzien-unlösliche Protein um 30% anteilig an der neutralen Detergenzienfaser anstieg und deren Aufnahme und Verdaulichkeit überschätzte.

Auch bei Erbsenschröpschnitten wurde kein oder nur ein geringer Effekt der thermischen Behandlung auf die Verdaulichkeit beobachtet. Dies bestätigt die Hypothese, dass Hitzeeinwirkung zwar den Ort der Verdauung von Nährstoffen beeinflusst (z.B. indem der N-Abbau vermehrt post-ruminal stattfindet), nicht wesentlich aber die Gesamttraktverdaulichkeit (Goelema et al., 1998; Poncet und

Rémond, 2002). Eine leichte Erhöhung der Verdaulichkeit des Rohproteins trat in Folge der Silierung von Erbsenschröpfungsschnitten auf, was auf den steigenden Anteil an löslichem Protein infolge der Silierung zurückzuführen ist (Mustafa und Seguin, 2003). Wie im Schlussbericht des LfULG beschrieben wurde, kam es während der Silierung der Teil- und Ganzpflanzen zu Proteolyse und dadurch zum Anstieg von Nicht-Protein-N Verbindungen. Gleichzeitig wurde eine Verringerung der Verdaulichkeit der Rohfaser und der Detergenzienfasern beobachtet, was das Resultat eines Abbaus leicht-löslicher Verbindungen in der Faserfraktion schon unter der Silierung sein kann (Der Bedrosian et al., 2012).

Als Konsequenz wurden weder Gehalte an umsetzbarer Energie noch an Nettoenergie Laktation in Folge von Silierung oder thermischer Behandlung verändert.

Epiphytische mikrobielle Gemeinschaften

Vergleichbare Daten zur Charakterisierung epiphytischer mikrobieller Gemeinschaften auf Erbsen in Abhängigkeit vom Reifestadium und der Silierung liegen nach Kenntnis der Autoren nicht vor. Die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften unterschied sich signifikant zwischen einerseits den Erbsenkörnern und andererseits den Erbsenteil- bzw. Ganzpflanzen, was aufgrund der geschützten Lage der Körner und eines sich vom Rest der Pflanze unterscheidenden Abreifeverhaltens plausibel ist. Dieser Umstand beeinflusst die Siliereignung der Körner abhängig vom Reifestadium. Diesbezüglich waren insbesondere unreife Erbsen (bis 39% Korntrockenmasse) anfällig gegen mikrobiellen Verderb und eher ungeeignet zur Silierung. Mit zunehmender Reife etablierte sich ein Bestand natürlicher (d.h. nicht mit dem Siliermittel zugesetzter) Milchsäurebakterien. Auf Grundlage dieser Ergebnisse könnten zumindest Teil- und Ganzpflanzen der Erbse ab einer Reife mit mindestens 43% Korntrockenmasse auch ohne den Zusatz von Milchsäurebakterienstämmen über ein Siliermittel erfolgreich siliert werden. Die Verwendung eines solchen Siliermittels förderte nichtsdestotrotz eine stabile Milchsäuregärung unter der Silierung, womit auch die aerobe Stabilität der geöffneten Silagen verbessert wurde. Ab diesem Reifestadium ist die Nährstoffeinlagerung im Korn weitestgehend abgeschlossen, weshalb mit der frühen Ernte phytosanitäre Effekte ohne zu erwartenden Nährstoffverlust genutzt werden können.

Morphologie der Stärkegranula und ihrer Verbundstrukturen

Vergleichbare elektronenmikroskopische Darstellungen der Stärkegranula und ihrer Matrixstrukturen bei nativen, silierten und mit unterschiedlichen Temperaturen thermisch behandelten Erbsenkörnern sind den Autoren nicht bekannt. Korrespondierend mit den geringen Effekten auf die Kohlenhydratfermentation (z.B. auf die Gasbildung) gab es nur wenig erkennbare morphologische Veränderungen infolge starker Hitzeeinwirkung ab ca. 180 °C Korntemperatur, die sich in einer Auflösung der sonst klar voneinander zu unterscheidenden Grenzbereiche zwischen Stärkegranula und den umgebenden Matrixfragmenten darstellte. Von einer

signifikanten Gelatinierung und/oder Retrogradierung der Stärke kann auf Grundlage dieser Ergebnisse nicht ausgegangen werden.

Antinutritive Inhaltsstoffe

Die wesentlichen Behandlungseffekte zeigten sich auf die Trypsininhibitoraktivität bei Erbsen- und Ackerbohnenkörnern sowie auf die Vicinkonzentration bei Ackerbohnenkörnern. Die Trypsininhibitoraktivität in den Erbsenkörnern wurde bereits durch die Silierung signifikant reduziert. Eine zusätzliche Reduktion erfolgte durch das nachfolgende Toasten ab ca. 100°C Korntemperatur und bestätigt damit die schon in früheren Studien beobachtete Wirkung thermischer Behandlung auf die Konzentration an antinutritiven Substanzen (van der Poel, 1989; Sharma et al., 2018). Bei den Körnern der Ackerbohne wurde die Trypsininhibitoraktivität durch das Silieren nicht reduziert. Allerdings war die Trypsininhibitoraktivität in den unbehandelten Ackerbohnen um mehr als das 40-fache geringer als z.B. in entfetteten Sojabohnen (Kumar et al., 2006), also bereits auf einem sehr niedrigen, ernährungsphysiologisch vermutlich nicht relevanten Ausgangsniveau.

Die Konzentration an Vicin wurde in den Ackerbohnen durch die Silierung, sortenunabhängig signifikant reduziert, was frühere Untersuchungen sowohl bestätigt (Rizzello et al., 2016) als auch zumindest in dieser Eindeutigkeit widerlegt (Gefrom et al., 2014). Ein Effekt der nachgelagerten thermischen Behandlung auf Vicin war aufgrund dessen nachgewiesener Hitzetoleranz (Khamassi et al., 2013) nicht zu erwarten.

6. Angaben zum voraussichtlichen Nutzen und zur Verwertbarkeit der Ergebnisse

Nutzen und mögliche Verwertbarkeit der im Projekt erzielten Ergebnisse sind im Schlussbericht des LfULG umfassend dargestellt. In Ergänzung dessen, sind durch die Silierung bzw. die kombinierte Behandlung aus Silieren und Toasten von Erbsen- bzw. Ackerbohnen antinutritive Inhaltsstoffe im Korn erfolgreich reduziert worden. Diesbezüglich empfehlen sich die geprüften Varianten auch für einen Einsatz in Rationen für monogastride Nutztiere. Weder bei Körnern noch bei Teil- und Ganzpflanzen führten die unterschiedlichen Behandlungen zu einer Veränderung der Nährstoffverdaulichkeit, was für einen erfolgreichen Einsatz von großer Bedeutung ist.

7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Der erste Abschnitt des Projekts wurde gemäß der ursprünglichen Arbeits-, Zeit- und Ausgabenplanung umgesetzt. Die formulierten Ziel- und Fragestellungen sind vollumfänglich bearbeitet und publiziert worden (siehe Punkt 9).

Insbesondere erntebedingte Unwägbarkeiten führten zu einer Neuausrichtung und Fortführung des Projekts. Die Gründe für die Neuplanung sind im Schlussbericht des

LfULG im Detail beschrieben. Auf Grundlage dessen wurden auch die Arbeiten der AG der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg neu ausgerichtet (Punkt 1.3.).

Im erweiterten Projektplan für Projektabschnitt 2 waren drei Arbeitspakete vorgesehen:

Arbeitspaket A: ergänzende Analysen zur Schnitt- bzw. Reifezeitpunktoptimierung und zur kombinierten Silierung und Wärmebehandlung von Erbsen und Ackerbohnen (aus großtechnisch erzeugten Varianten) mit a) der Analyse von Speicherkohlenhydraten mono- bis oligomerer Formen (quantitative Bestimmung), b) der elektronenmikroskopischen Darstellung behandlungsbedingter Veränderungen der Stärkegranula in ihrer Verbundstruktur, c) der Analyse ausgewählter antinutritiver Inhaltsstoffe und d) mikrobiologischer Untersuchungen zur Beschreibung der epiphytischen Mikroflora und deren Veränderung in Folge der Abreife bzw. der Silierung.

Arbeitspaket A wurde vollständig und erfolgreich umgesetzt. Die Ergebnisse sind unter Punkt 4 zusammenfassend dargestellt. Die Publikation der Ergebnisse erfolgte bereits im Rahmen früherer projektbezogener Veröffentlichungen (Ergebnisse zur Elektronenmikroskopie der Stärkegranula sowie Ergebnisse zu antinutritiven Inhaltsstoffen) oder ist aktuell in Vorbereitung (Ergebnisse zu den Untersuchungen epiphytischer mikrobieller Gemeinschaften).

Arbeitspaket B: in vitro Untersuchungen zur Charakterisierung von Schnitt- bzw. Reifezeitpunkt- und Behandlungseffekten auf den Futterwert von Erbsen und Ackerbohnen (aus ausgewählten Varianten) – Bestimmung der Gasbildungsdynamik (ruminale Stärkeabbau) und des nutzbaren Rohproteins am Duodenum unter Verwendung mikrobieller Batchkulturen aus Pansensaft, sowie des pansenstabilen Proteins im enzymatischen Schätzverfahren. Bestimmung der Abbaubarkeit von Rohprotein, Stärke und von Faserkomponenten im Daisy II-Inkubator.

Arbeitspaket B wurde vollständig und erfolgreich umgesetzt. An Stelle der Bestimmung der Abbaukinetik im Daisy II-Inkubator wurden die Batch-Kultur-Versuche mithilfe der deutlich erweitert (3 Versuche anstatt einem Versuch mit ausgewählten Varianten aus modellhafter und großtechnischer Produktion) sowie um die Bestimmung des mikrobiell synthetisierten Proteins als wesentlicher Teil des nutzbaren Rohproteins am Duodenum ergänzt. Dies erschien deshalb sinnvoll, weil die Ergebnisse aus Projektabschnitt 1 gezeigt haben, dass, zumindest bei den Erbsen- bzw. Ackerbohnenkörnern, pansenstabilen Protein durch das Silieren und v.a. durch die nachfolgende thermische Behandlung ansteigt, sich das nutzbare Rohprotein am Duodenum aber nicht wesentlich verändert. Daraus konnte ein Behandlungseffekt auf die mikrobielle Proteinsynthese im Pansen vermutet werden. Die Abbaukinetik des Proteins wurde durch Beprobung zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Batch-Kultur-Versuch realisiert. Darüber hinaus wurden Proben archiviert, aus denen der Abbau auch von Stärke bestimmt werden kann.

Arbeitspaket C: Standardverdauungsversuch zur Bestimmung der Nährstoffverdaulichkeit in Abhängigkeit der kombinierten Behandlung durch Silierung und Wärmebehandlung von Erbsen und Ackerbohnen (aus großtechnisch erzeugten Varianten).

Arbeitspaket C wurde vollständig und erfolgreich umgesetzt und darüber hinaus um einen Standardverdauungsversuch erweitert. Die Ergebnisse sind unter Punkt 4 dargestellt, wurden bereits in Teilen publiziert bzw. werden zeitnah zur Publikation vorbereitet.

8. Literaturverzeichnis

Albers, D.; Kaemena, F. Ackerbohnenanzpflanzensilage. Erste Ergebnisse zur Siliereignung und zum Futterwert. LWK-Niedersachsen, 2015.

Arija, A.C.; Ravindran, V.; Lentle, R.G.; Thomas, D.G. Influence of feed particle size on the performance, energy utilization, digestive tract development and digesta parameters of broiler starters fed wheat- and corn-based diets. *Poultry Sci.* 2008, 87, 2320-2328.

Assoumani, M. B., F. Vedeau, L. Jacquot, and C. J. Sniffen. Refinement of an enzymatic method for estimating the theoretical degradability of proteins in feedstuffs for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1992, 39:357–368. doi:10.1016/0377-8401(92)90054-A.

Aufrère, J., D. Graviou, J. P. Melcion, and C. Demarquilly. Degradation in the rumen of lupin (*Lupinus albus* L.) and pea (*Pisum sativum* L.) seed proteins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2001, 92, 215–236. doi:10.1016/S0377-8401(01)00262-0.

Azarfar, A., S. Tamminga, W. Pellikaan, and A. F. van der Poel. *In vitro* gas production profiles and fermentation end-products in processed peas, lupins and faba beans. 2008, *J. Sci. Food Agric.* 88, 1997–2010. doi:10.1002/jsfa.3310.

Bolyen, E.; Rideout, J.R.; Dillon, M.R.; Bokulich, N.A.; Abnet, C.C.; Al-Ghalith, G.A.; Alexander, H.; Alm, E.J.; Arumugam, M.; Asnicar, F.; Bai, Y.; Bisanz, J.E.; Bittinger, K.; Brejnrod, A.; Brislawn, C.J.; Brown, C.T.; Callahan, B.J.; Caraballo-Rodríguez, A.M.; Chase, J.; Cope, E.K.; Da Silva, R.; Diener, C.; Dorrestein, P.C.; Douglas, G.M.; Durall, D.M.; Duvallet, C.; Edwardson, C.F.; Ernst, M.; Estaki, M.; Fouquier, J.; Gauglitz, J.M.; Gibbons, S.M.; Gibson, D.L.; Gonzalez, A.; Gorlick, K.; Guo, J.; Hillmann, B.; Holmes, S.; Holste, H.; Huttenhower, C.; Huttley, G.A.; Janssen, S.; Jarmusch, A.K.; Jiang, L.; Kaehler, B.D.; Kang, K.B.; Keefe, C.R.; Keim, P.; Kelley, S.T.; Knights, D.; Koester, I.; Kosciulek, T.; Kreps, J.; Langille, M.G.I.; Lee, J.; Ley, R.; Liu, Y.X.; Lofffield, E.; Lozupone, C.; Maher, M.; Marotz, C.; Martin, B.D.; McDonald, D.; McIver, L.J.; Melnik, A.V.; Metcalf, J.L.; Morgan, S.C.; Morton, J.T.; Naimey, A.T.; Navas-Molina, J.A.; Nothias, L.F.; Orchanian, S.B.; Pearson, T.; Peoples, S.L.; Petras, D.; Preuss, M.L.; Pruesse, E.; Rasmussen, L.B.; Rivers, A.; Robeson, M.S.; Rosenthal, P.; Segata, N.; Shaffer, M.; Shiffer, A.; Sinha, R.; Song, S.J.; Spear, J.R.; Swafford, A.D.; Thompson, L.R.; Torres, P.J.; Trinh, P.; Tripathi, A.; Turnbaugh, P.J.; Ul-Hasan, S.; van der Hooft, J.J.J.; Vargas, F.; Vázquez-Baeza, Y.; Vogtmann, E.; von Hippel, M.; Walters, W.; Wan, Y.; Wang, M.; Warren, J.; Weber, K.C.; Williamson, C.H.D.; Willis, A.D.; Xu, Z.Z.; Zaneveld, J.R.; Zhang, Y.; Zhu, Q.; Knight, R.; Caporaso, J.G.

- Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.* 2019, 37, 852-857.
- Bradley, I.M.; Pinto, A.J.; Guest, J.S. Design and evaluation of Illumina MiSeq-compatible, 18S rRNA gene-specific primers for improved characterization of mixed phototrophic communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016, 82, 5878-5891.
- Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG). DLG-Futterwerttabellen Wiederkäuer, 7th ed.; DLG-Verlag: Frankfurt (Main), 1997.
- Der Bedrosian, M. C., K. E. Nestor, and L. Kung. The effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *J. Dairy Sci.* 2012, 95:5115–5126. doi:10.3168/jds.2011-4833.
- Duranti, M. Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia.* 2006. 77, 67–82. doi:10.1016/j.fitote.2005.11.008.
- Focant, M., A. Van Hoecke, and M. Vanbelle. The effect of two heat treatments (steam flaking and extrusion) on the digestion of *Pisum sativum* in the stomachs of heifers. *Animal Feed Science and Technology.* 1990, 28,0303–313. doi:10.1016/0377-8401(90)90161-Z.
- Fontaine, J.; Bech-Andersen, S.; Butikofer, U.; de Froidmont-Görtz, I. Determination of tryptophan in feed by HPLC – development of an optimal hydrolysis and extraction procedure by the EU Commission DG XII in three international collaborative studies. *Agribiol. Res.* 1998, 51, 97-108.
- France, J.; Dijkstra, J.; Dhanoa, M.S.; Lopez, S.; Bannink, A. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed in vitro: derivation of models and other mathematical considerations. *Br. J. Nutr.* 2000, 83, 143-150.
- Frikha, M.; Valencia, D.G.; de Coca-Sinova, A.; Lázaro, R.; Mateos, G.G. Ileal digestibility of amino acids of unheated and autoclaved pea protein concentrate in broilers. *Poultry Sci.* 2013, 92, 1848-1857.
- Gefrom, A. Die Silierung von Körnern der großsamigen Leguminosen als Methode der Konservierung und der Verbesserung ihres ernährungsphysiologischen Wertes für Monogastrier. Universität Rostock: Dissertation, 2013.
- Gefrom, A.; Balko, C.; Zeyner, A. Silierung von feuchtem Körnerschrot von Ackerbohnen, Futtererbsen und Lupinen als Verfahren der Konservierung und zur Reduzierung antinutritiver Inhaltsstoffe. 2014; <https://www.proteinmarkt.de/fileadmin/download/nachrichten/versuchsberichte/schwein/Proteinmarkt14.pdf>.
- Gefrom, A.; Ott, E.M.; Hoedtke, S.; Zeyner A. Effect of ensiling moist field bean (*Vicia faba*), pea (*Pisum sativum*) and lupine (*Lupinus* spp.) grains on the content of alkaloids, oligosaccharides and tannins. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2012, 97, 1152-1160.
- Gefrom, A.; Ott, E.M.; Hoedtke, S.; Zeyner, A. Silierung rückbefeuchteter Leguminosenkörner und der Einfluss der Silierung auf den Gehalt an Alkaloiden, Oligosacchariden, Phytat-Phosphor und Tanninen. *Züchtungskunde* 2013, 85, 154-168.

- Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE). Leitlinien für die Bestimmung der Verdaulichkeit von Rohnährstoffen an Wiederkäuern. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2001. 65:229-234.
- Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE). Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder; DLG-Verlag: Frankfurt (Main), 2001.
- Goelema, J. O., A. Smits, L. M. Vaessen, and A. Wemmers. Effects of pressure toasting, expander treatment and pelleting on in vitro and in situ parameters of protein and starch in a mixture of broken peas, lupins and faba beans. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1999, 78, 109–126. doi:10.1016/S0377-8401(98)00266-1.
- Goelema, J. O., M. A. M. Spreeuwenberg, G. Hof, A. F. B. van der Poel, and S. Tamminga. Effect of pressure toasting on the rumen degradability and intestinal digestibility of whole and broken peas, lupins and faba beans and a mixture of these feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1998, 76, 35–50. doi:10.1016/S0377-8401(98)00212-0.
- Hammer, Ø.; Harper, D.A.T.; Ryan, P.D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 2001, 4, 4; http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
- Honig, H. Evaluation of aerobic stability. In *Proceedings of the EUROBAC Conference*, Uppsala, Sweden, 12 – 16 August 1986; Lindgren, S., Pettersson, K., Eds.; Swedish University of Agricultural Sciences: Uppsala, 1990; pp. 72-78.
- Kakade, M.L.; Simons, N.; Liener, I.E. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chemistry* 1969, 46, 518-526.
- Khamassi, K.; Ben Jeddi, F.; Hobbs, D.; Irigoyen, J.; Stoddard, F.; O’Sullivan, D.M.; Jones, H. A baseline study of vicine–convicine levels in faba bean (*Vicia faba* L.) germplasm. *Plant Genetic Resources* 2013, 11, 250-257.
- Klindworth, A.; Pruesse, E.; Schweer, T.; Peplies, J.; Quast, C.; Horn, M.; Glöckner, F.O. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucl. Acids Res.* 2013, 41, e1, <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>.
- Kumar, V., A. Rani, V. Pandey, and G. S. Chauhan. Changes in lipoxygenase isozymes and trypsin inhibitor activity in soybean during germination at different temperatures. *Food Chemistry.* 2006, 99, 563–568. doi:10.1016/j.foodchem.2005.08.024.
- Licitra, G.; Hernandez, T.M.; Van Soest, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1996, 57, 347-358.
- Licitra, G., F. Lauria, S. Carpino, I. Schadt, C. J. Sniffen, and P. J. Van Soest. Improvement of the *Streptomyces griseus* method for degradable protein in ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1998, 72:1–10. doi:10.1016/S0377-8401(97)00178-8.
- Masoero, F., A. M. Pulimeno, and F. Rossi. Effect of extrusion, expansion and toasting on the nutritional value of peas, faba beans and lupins. *Ital. J. Anim. Sci.* 2005, 4, 177–189. doi:10.4081/ijas.2005.177.

- Menke, KH.; Steingass, H. Estimation of the energetic feed value from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 1988, 28, 7-55.
- Mustafa, F.; Seguin, P. Characteristics and in situ degradability of whole crop faba bean, pea, and soybean silages. *Can. J. Anim. Sci.* 2003, 83, 793-799.
- Nutrient Requirements of Dairy Cattle (NRC). 7. Auflage. 2001, National Academy Press: Washington, DC, USA.
- Poncet, C., and D. Rémond. Rumen digestion and intestinal nutrient flows in sheep consuming pea seeds: the effect of extrusion or chestnut tannin addition. *Anim. Res.* 2002, 51, 201–216. doi:10.1051/animres:2002021.
- Pulkkinen, M.; Gautam, M.; Lampi, A.M.; Ollilainen, V.; Stoddard, F.; Sontag-Strohm, T.; Salovaara, H.; Piironen V. Determination of vicine and convicine from faba bean with an optimized high-performance liquid chromatographic method. *Food Res. Int.* 2015, 76, 168-177.
- Quast, C.; Pruesse, E.; Yilmaz, P.; Gerken, J.; Schweer, T.; Yarza, P.; Peplies, J.; Glöckner, F.O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucl. Acids Res.* 2013, 41, 590-596.
- Raab, L.; Cafantaris, B.; Jilg, T.; Menke, K.H. Rumen protein degradation and biosynthesis: 1. a new method for determination of protein degradation in rumen fluid in vitro. *Br. J. Nutr.* 1983, 50, 569-582.
- Rizzello, C. G., I. Losito, L. Facchini, K. Katina, F. Palmisano, M. Gobbetti, and R. Coda. Degradation of vicine, convicine and their aglycones during fermentation of faba bean flour. *Sci Rep.* 2016, 6, 32452. doi:10.1038/srep32452.
- Rodrigues, I. M., M. G. V. S. Carvalho, and J. M. S. Rocha. 2014. Increasing the protein content of rapeseed meal by enzymatic hydrolysis of carbohydrates. *BioResources.* 9:2010–2025.
- Sharma, S., A. Singh, U. Sharma, R. Kumar, and N. Yadav. Effect of thermal processing on anti-nutritional factors and in vitro bioavailability of minerals in desi and kabuli cultivars of chick pea grown in North India. 2018, LR. doi:10.18805/LR-3708.
- Sinram, R.D. Nephelometric determination of phosphorus in soybean and corn oil processing. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1986, 63, 667-670.
- Terrill, T.H.; Rowan, A.M.; Douglas, G.B.; Barry, T.N. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J. Sci. Food Agr.* 1992, 58, 321-329.
- Thaysen, J. Erprobung des Verfahrens der Feuchtkörnerleguminosensilierung (Erbsen, Lupinen und Ackerbohnen) unter Verwendung von Silier- und Konservierungszusätzen zur betriebseigenen Verfütterung. Ergebnisse von Prüfaufträgen der UFOP e.V. Berlin 2007, Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein: Rendsburg, 2009.

- Theurer, C. B., J. T. Huber, A. Delgado-Elorduy, and R. Wanderley. Invited Review: Summary of Steam-Flaking Corn or Sorghum Grain for Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 1999, 82, 1950–1959. doi:10.3168/jds.S0022-0302(99)75431-7.
- Tyrolová, Y.; Výborná, A. The effects of wilting and biological and chemical additives on the fermentation process in field pea silage. *Czech J. Anim. Sci.* 2011, 56, 427-432.
- Van der Poel, A. F. B. (1990): Effects of processing on bean (*Phaseolus vulgaris* L.): protein quality. Dissertation. Wageningen. Niederlande.
- VDLUFA. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch. 3rd ed.; VDLUFA-Verlag: Darmstadt, 2012.
- Weissbach, F.; Prym, R.; Peters, G.; v. Lengerken, J. Pepsin-insoluble crude protein – criterion of green forage silage quality. *Tierzucht* 1985, 39, 346-349.
- Yilmaz, P.; Parfrey, L.W.; Yarza, P.; Gerken, J.; Pruesse, E.; Quast, C.; Schweer, T.; Peplies, J.; Ludwig, W.; Glöckner, F.O. The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks. *Nucl. Acids Res.* 2014, 42, 643-648.
- Yu P, Goelema JO, Leury BJ, Tamminga S, Egan AR. An analysis of the nutritive value of heat processed legume seeds for animal production using the DVE/OEB model: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2002, 99, 141-176.
- Zeyner, A.; Ott, E.; Hackl, W.; Gefrom, A. Die Silierung von Körnern der großsamigen Leguminosen als Verfahren der Konservierung und der Verbesserung ihres ernährungsphysiologischen Wertes für Monogastrier. Abschlussbericht zum Projekt BLE-03HS002, Rostock, 2008.

9. Übersicht über alle im Berichtszeitraum realisierten Veröffentlichungen zum Projekt

Peer-Review Artikel

- Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Okon, P.; Martens, S.D.; Greef, J.M.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Ruminal in vitro protein degradation and apparent digestibility of energy and nutrients in sheep fed native or ensiled + toasted pea (*Pisum sativum*) grains. *Animals* 2019, 9, 401; doi: 10.3390/ani9070401 (Open Access).
- Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Thierbach, A.; Michel, S.; Bochnia, M.; Greef, J.M.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Effects of toasting temperature and duration on in vitro ruminal gas production kinetics and post-ruminal crude protein from field pea (*Pisum sativum*) legume grain silages. *Livest. Sci.* 2020, 233, 103944.
- Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Estimation of gas production and post-ruminal crude protein from native or ensiled *Pisum sativum* and *Vicia faba* grains. *J. Appl. Anim. Res.* 2020, 48, 78-85; doi: 10.1080/09712119.2020.1733581 (Open Access).

Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Michel, S.; Thierbach, A.; Bochnia, M.; Greef, J.M.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Effect of toasting grain silages from field peas (*Pisum sativum*) and field beans (*Vicia faba*) on in vitro gas production, methane production, and post-ruminal crude protein content. *Anim. Nutr.* 2020, 6, 342-352 (Open Access).

Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Control of bean seed beetle reproduction through cultivar selection and harvesting time. *Agr. Ecosys. Environ.* 2020, 300, 107005.

Weitere Zeitschriftenartikel

Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Bachmann, M.; Zeyner, A.; Hofmann, T.; Steinhöfel, O. Untersuchungen zum Einsatz siliierter und getoasteter Erbsen in der Fütterung von Milchkühen. *REKASAN J.* 2019, 26, 46-49.

Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Einfluss des Silierens und Toastens auf antinutritive Inhaltsstoffe von Erbsen und Ackerbohnen. *REKASAN J.* 2020, 27, 20-21.

Kuhnitzsch, C.; Hofmann, T.; Bachmann, M.; Martens, S.D.; Henle, T.; Zeyner, A.; Steinhöfel, O. Effekte des Silierens und Toastens teigreif geernteter Erbsen auf die Bildung von Maillardprodukten. *REKASAN J.* 2020, 27, 22-24.

Tagungsbeiträge

Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Comparison of two in vitro systems for the estimation of total gas production and utilizable crude protein at the duodenum from native or ensiled field peas and field beans in ruminants. 72nd Conference of the Society of Nutrition Physiology, Göttingen, 2018.

Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Martens, S.; Wensch-Dorendorf, M.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Estimation of ruminal gas production and utilisable crude protein at the duodenum from native, ensiled and ensiled + toasted field peas and field beans. 18th International Silage Conference, Bonn, 2018.

Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Bachmann, M.; Bochnia, M.; Zeyner, A. Influence of ensiling and thermal treatment of peas on their feed value. 18th International Silage Conference, Bonn, 2018.

Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Thierbach, A.; Michel, S.; Bochnia, M.; Greef, J.M.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Effects of toasting temperature and time on ruminal gas production kinetics and post-ruminal crude protein from field pea (*Pisum sativum*) grain silages measured in vitro. 73rd Conference of the Society of Nutrition Physiology, Göttingen, 2019.

Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Bachmann, M.; Zeyner, A.; Hofmann, T.; Steinhöfel, O. Vergleichende Untersuchungen zum Einsatz siliert und getoasteter Erbsen bzw. Erbsenschröpschnitt-GPS in der Fütterung hochleistender Milchkühe. Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung, Fulda, 2019.

- Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Okon, P.; Martens, S.D.; Greef, J.M.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Ruminal in vitro protein degradation, anti-nutrient reduction, and in vivo digestibility of energy and nutrients in ensiled + toasted pea grains. *Advances in Animal Biosciences* 2019, 10, p. 539 (XIII International Symposium on Ruminant Physiology, Leipzig).
- Kuhnitzsch, C.; Hofmann, T.; Bachmann, M.; Martens, S.D.; Henle, T.; Zeyner, A.; Steinhöfel, O. Effect of ensiling and toasting of field pea grains on formation of Maillard polymers from lysine and arginine. *Advances in Animal Biosciences* 2019, 10, p. 540 (XIIIth International Symposium on Ruminant Physiology, Leipzig).
- Kuhnitzsch, C.; Hofmann, T.; Bachmann, M.; Martens, S.D.; Henle, T.; Zeyner, A.; Steinhöfel, O. Effect of ensiling and toasting of early harvested field pea grains on formation of Maillard polymers from lysine and arginine. 18th International Symposium Forage Conservation, Brno, 2019.
- Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Einfluss des Silierens und Toastens auf antinutritive Inhaltsstoffe von Erbsen und Ackerbohnen. 15. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Lutherstadt Wittenberg, 2019.
- Kuhnitzsch, C.; Hofmann, T.; Bachmann, M.; Martens, S.D.; Henle, T.; Zeyner, A.; Steinhöfel, O. Effekte des Silierens und Toastens teigreif geernteter Erbsen auf die Bildung von Maillard-Produkten. 15. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, Lutherstadt Wittenberg, 2019.
- Bachmann, M.; Kuhnitzsch, C.; Martens, S.D.; Steinhöfel, O.; Zeyner, A. Apparent digestibility of energy and proximate nutrients of ensiled and ensiled + dried partial-crop field peas in sheep. 74. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE), Göttingen, 2020.