



## Doctoral Thesis

# **Methionine, lysine and leucine in dairy cows limitations and their use to improve protein utilisation and minimise nitrogen losses from manure**

**Author(s):**

Kröber, Thomas Franz

**Publication Date:**

2000

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-003906475> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 13568

**Methionine, Lysine and Leucine in Dairy Cows:  
Limitations and their Use to improve Protein Utilisation  
and minimise Nitrogen Losses from Manure**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZÜRICH  
for the degree of  
Doctor of Natural Sciences

presented by  
Thomas Franz Kröber  
Dipl. Ing.-Agr., Hohenheim (Germany)  
born February 03, 1968 in Koblenz/Germany

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. M. Kreuzer, examiner  
Prof. Dr. H. P. Pfirter, co-examiner  
Dr. F. Sutter, co-examiner

Zürich 2000

## SUMMARY

The objective of the present study was to determine the degree of limitation of performance and metabolic functions by the amino acids methionine and leucine (experiment 1) and methionine and lysine (experiment 2) in dairy cows. In experiment 3 the effects of a lower nitrogen intake combined with a simultaneous supplementation of rumen protected methionine on performance, metabolism and nitrogen emissions of early lactating dairy cows were investigated.

All experiments were carried out on 24 multiparous Brown Swiss cows in early lactation. In experiment 1 and 2 a  $2 \times 2$  statistical design was chosen to investigate the effect of the single amino acid and the combination of both amino acids. The third experiment was conducted to determine the effects of supplementary rumen-protected methionine in conjunction with dietary protein reduction in a complete balanced design. In a balance trial, lasting three weeks in experiment 1 and 2 and five weeks in experiment 3, data of performance, metabolism and in the third experiment also of nitrogen turnover in slurry were recorded in the third week (collection week). The third experiment included also two further weeks for the collection of feed intake and performance data. For the calculation of the ration, especially for the amino acid supply, a factorial approach was used which considers actual milk yield and milk protein content. On a dry matter basis the ration consisted of 28 % haylage, 20 % maize silage, 5 % hay and 47 % concentrate for experiment 1 and 2. In the third experiment the animals were fed a diet consisting of 26 % haylage, 20 % maize silage, 5 % hay and 49 % concentrate. In experiment 1 and 2 the diets contained 14.7 % crude protein on average on an dry matter basis. The variation of the leucine and lysine content was achieved by the use and variation of maize gluten (experiment 1) and fish meal (experiment 2) respectively. In all experiments the methionine supply was varied with rumen-protected methionine. In experiment 3 three different levels of crude protein were fed (17.5 %, 15.0 % and 12.5 % in DM). These three diets were supplemented with rumen-protected methionine and a further low protein (12.5%) group remained unsupplemented. The animals were balanced for milk yield and live weight before the experiments started. Before the beginning of the experiment and after two weeks of treatment blood samples

were drawn for the determination of the plasma concentrations of amino acids, hormones, metabolic variables and enzyme activities.

Changes in blood plasma concentrations of the considered amino acids, in experiment 1 and 2, showed a clear effect of different levels of amino acids supply. In the third experiment the blood plasma concentration of methionine tended to be decreased without and increased with additional methionine. Due to the supplementation of methionine other amino acids were decreased in experiment 3, suggesting a higher need for these amino acids due to an increased protein utilisation. In the present study live weight, feed intake and milk yield remained unaffected by dietary changes. Milk fat yield decreased in the second experiment by adding methionine and lysine. Milk fat content was unaffected in all experiments. In the first experiment the milk protein content and amount were reduced without additional methionine whereas in experiment 2 the milk protein content was elevated by the addition of both amino acids. In experiment 3 the content and yield of milk protein were significantly decreased relative to the initial value in the unsupplemented low protein group. In the low protein group with additional methionine the decline seemed to be retarded compared to the unsupplemented variant. Nutrient digestibilities were mainly unaffected in the study except for the fibre digestibility in experiment 3 owing to a lower content for degradable crude protein in both low protein diets. In the present study the nitrogen balances were unaffected by the treatment. The reactions of metabolic variables in blood plasma, milk and urine were varying in the three experiments. In experiment 1 aspartate amino transferase, cholesterol, creatinine and ornithine responded to additional methionine whereas hormones, other metabolites and enzyme activities remained unaffected. A higher supply of methionine and lysine in the second experiment elevated aspartate amino transferase and decreased allantoin concentration in urine. A supplementation of methionine increased plasma ornithine. In the third experiment plasma insulin, glucose, lactate, ketone bodies and aspartate amino transferase activity indicated a certain liver stress and an additional energy requirement with high and particularly with low protein content (when unsupplemented). Other metabolic traits indicated that mobilisation of body protein reserves was not different. Methionine improved both the metabolic protein utilisation and energy status,

with the lowest plasma, urine and milk urea levels occurring in the supplemented low protein diet.

In experiment 3 the impact of a variation in crude protein intake and additional methionine was investigated. The differences in nitrogen intake were reflected in the daily excretion in urinary nitrogen, milk urea and in urinary urea nitrogen (139, 70, 19 and 34 g d in the four rations) excretion. The efficacy of nitrogen utilisation for milk protein production significantly increased with decreasing crude protein content from 27 to 34 % (unsupplemented low protein group) and 36 % (with additional methionine). Due to the lowest content of total nitrogen and of urinary nitrogen in total nitrogen, with the supplemented low protein ration the significantly lowest gaseous nitrogen emissions occurred during storage of slurry. With 175, 150 and 125 g CP/kg feed DM, the average ammonia emissions after 1 d of storage was 281, 194 and 67  $\mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  and total nitrogen loss during 50 days of storage was 89, 57 and 25 g cow/d.

In conclusion, although in experiment 1 and 2 adverse effects caused by a calculated deficiency of methionine, leucine and lysine were marginal, the results suggested more likely a limitation by methionine than by leucine and lysine or even a colimiting effect of these amino acids. Furthermore the study showed that the metabolisability of the rumen protected methionine is clearly proved due to the changes in blood plasma concentrations of methionine. The third experiment allows to say that low-protein rations can be fed to early-lactating cows without greater adverse metabolic and production effects when appropriately supplemented with amino acids and rumen-degradable protein. Due to a supplementation of rumen-protected methionine to a low protein ration the efficiency of milk protein synthesis seemed to be expanded.

## ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Studie sollte der Grad der Limitierung der Milchleistung und die Beeinflussung des Stoffwechsels von Milchkühen durch die Aminosäuren Methionin und Leucin (Experiment 1) und Methionin und Lysin (Experiment 2) in einer Ration, in der jeweils die beiden Aminosäuren rechnerisch im Mangel waren, ermittelt werden. In einem dritten Experiment wurden die Auswirkungen einer unterschiedlichen Stickstoffaufnahme kombiniert mit einer Methioninergänzung auf die Leistung, den Stoffwechsel und die Stickstoffemissionen bei Milchkühen am Start der Laktation untersucht.

Alle Versuche wurden mit jeweils 24 Tieren der Rasse Brown Swiss durchgeführt. Alle Tiere befanden sich am Beginn der Laktation. Für Versuch 1 und 2 wurde ein  $2 \times 2$  faktorielles Design gewählt, um die Auswirkungen einer einzelnen Aminosäure und beider Aminosäuren zusammen zu überprüfen. In einem dritten Versuch wurden in einem komplett balancierten Design die Auswirkung der Rohproteinabsenkung in der Ration mit einer zusätzlichen Ergänzung von pansengeschütztem Methionin untersucht. In einem dreiwöchigen (Experiment 1 und 2) und einem fünföchigen Bilanzversuch (Experiment 3) wurden die Leistungs- und Stoffwechseldaten und im dritten Versuch zusätzlich die Stickstoffumsetzungen in der Gülle in der dritten Woche (Sammelwoche) erhoben. Im dritten Versuch wurden nach der Sammelperiode in zwei weiteren Wochen Futteraufnahme und Milchleistungsdaten ermittelt. Für die Planung der Ration, besonders für die Berechnung der unterschiedlichen Aminosäurenversorgung wurde ein faktorielles System gewählt, welches den Erhaltungsbedarf, die Milchleistung und den Milchproteingehalt berücksichtigt. Auf die Trockenmasse bezogen bestanden die Rationen im Mittel aus 28% Haylage, 20% Maissilage, 5% Heu und 47% Kraftfutter (Versuch 1 und 2), während sich die Ration in Versuch 3 (Bestand bezogen auf die Trockenmasse) aus 26% Haylage, 20% Maissilage, 5% Heu und 49% Kraftfutter zusammensetzte. In Experiment 1 und 2 hatten die Rationen einen Rohproteingehalt von 147 g/kg T. Die Variationen in den Rationen für Leucin und Lysin wurden durch den Austausch von Komponenten des Kraftfutters mit Maiskleber für Leucin und Fischmehl für Lysin erreicht. Methionin wurde in allen Versuchen in pansengeschützter

Form ergänzt. Im dritten Experiment wurden Rationen mit drei verschiedenen Stufen an Rohprotein (17.5%, 15.0% und 12.5% i. T.) gefüttert. Diese drei Rationen wurden zusätzlich mit Methionin ergänzt. Eine weitere Niedrigproteinration (12.5% RP) wurde nicht supplementiert. Vor dem Start des jeweiligen Versuches wurden die Tiere gemäss Lebendmasse und Milchleistung auf die Gruppen verteilt. Vor Versuchsstart und in der Sammelwoche wurden von den Tieren Blutproben genommen, um Auswirkungen auf die Konzentrationen von Aminosäuren, Hormonen und Metaboliten, sowie auf die Aktivität von ausgewählten Enzymen zu untersuchen.

Die Veränderungen der Blutplasmakonzentrationen der untersuchten Aminosäuren in den Versuchen 1 und 2 zeigten einen klaren Einfluss der unterschiedlichen Versorgung mit den Aminosäuren über das Futter. Im dritten Versuch wurden die Methioninkonzentrationen bei Methioninergänzung tendenziell angehoben, ohne Ergänzung schienen sie abzufallen. Durch die Supplementierung von Methionin sanken die Konzentrationen anderer Aminosäuren, was auf eine stärkere Nutzung dieser Aminosäuren schliessen lässt, da durch zusätzliches Methionin der Wirkungsgrad der Proteinsynthese gesteigert war. In der Studie wurden Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Milchleistung durch die unterschiedlichen Rationen nicht beeinflusst. Die Milchfettmenge fiel durch zusätzliches Methionin und Lysin (Experiment 2) auf ein tieferes Niveau ab, während die Milchfettkonzentration in allen Versuchen unbeeinflusst blieb. Im ersten Experiment nahmen Gehalt und Menge von Milchprotein ohne Methioninergänzung signifikant ab, während im zweiten Versuch der Milchproteingehalt durch die Zulage von Methionin und Lysin gesteigert wurde. In Experiment 3 waren Milchproteingehalt und -menge in der Niedrigproteinvariante ohne Methioninergänzung, verglichen mit dem Ausgangswert, niedriger. In der Niedrigproteinvariante mit zusätzlichem Methionin schien der Abfall im Protein verzögert zu sein. Die Nährstoffverdaulichkeit war grösstenteils durch die Behandlung nicht beeinflusst. Nur im dritten Versuch war, durch einen Mangel an pansenverfügbarem Stickstoff bei der 12.5% Ration verursacht, die Faserverdaulichkeit beeinträchtigt. Die Daten der Stickstoffbilanz wurden durch die unterschiedliche Fütterung nicht beeinflusst. Die

Stoffwechselmetaboliten in Blutplasma, Milch und Harn reagierten unterschiedlich. Im ersten Versuch reagierten Aspartat-Amino-Transferase, Cholesterin, Kreatinin und Ornithin auf eine Supplementierung von Methionin, während Hormone und die meisten Enzymaktivitäten und Metaboliten nicht beeinflusst wurden. Die Erhöhung der Lysinzufuhr erhöhte die Konzentration an Aspartatamino-Transferase und senkte die Allantoinkonzentration im Harn. Die Zugabe von Methionin erhöhte die Ornithinkonzentration. Die Blutplasmakonzentrationen an Insulin, Glukose, Laktat, Ketonkörper und die Aktivität von Aspartat - Amino - Transferase im dritten Experiment lassen auf eine gewisse Leberbelastung und einen zusätzlichen Energiebedarf in der Hochprotein- und in der nicht ergänzten Niedrigproteinvariante schliessen. Andere Stoffwechselreaktionen deuten nicht auf einen Unterschied in der Mobilisierung von Körperproteinreserven hin. Die niedrigsten Harnstoffkonzentrationen in Blut, Milch und Harn lassen sowohl auf eine Steigerung der Proteinverwertung als auch auf eine verbesserte Energieversorgung in der Variante mit der niedrigsten Proteinstufe schliessen, wenn sie mit Methionin ergänzt wurde.

Im dritten Versuch wurde ebenfalls der Einfluss einer unterschiedlichen Rohproteinversorgung mit einer Methioninsupplementierung untersucht. Die unterschiedliche Stickstoffaufnahme spiegelte sich in der täglich ausgeschiedenen Harnstickstoffmenge, in der Milchharnstoffausscheidung und besonders in der renalen Ausscheidung von Harnstoff-Stickstoff wider (139, 70, 19, 34 g/d in den vier Rationen). Die Veränderungen im Kotstickstoff waren kleiner und sowohl die Milchstickstoffausscheidung als auch die Stickstoffbilanz blieben unbeeinflusst. Die Ausscheidung von Stickstoff mit der Milch im Verhältnis zur Stickstoffaufnahme stieg mit fallender Rohproteinkonzentration in der Ration von 27% auf 34% (Niedrigproteinvariante ohne Methioninergänzung) und 36% (mit Methioninsupplementierung) an. Durch den niedrigsten Gehalt an Gesamtstickstoff und Harnstickstoff in den Gesamtstickstoffausscheidungen, waren auch die gasförmigen Stickstoffemissionen bei der Güllelagerung in der Gruppe mit der niedrigsten Rohproteinversorgung ergänzt mit Methionin am niedrigsten. Mit 175 g, 150 und 125 g Rohprotein/kg T betragen die durchschnittlichen Ammoniakemissionen innerhalb der ersten 24 h der



Lagerung 281, 194, 67  $\mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ . Der Gesamtstickstoffverlust lag, während 50 tägiger Lagerung, bei 89, 57 und 25 g/Kuh und Tag.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in Versuch 1 und 2 die negativen Auswirkungen einer rechnerischen Mangelration in den untersuchten Aminosäuren marginal waren. Die Ergebnisse lassen am ehesten auf eine Limitierung durch Methionin schliessen, aber es ist auch denkbar, dass die Aminosäuren Lysin und Leucin in gewisser Weise kolimitierend wirken. Die Wirksamkeit des geschützten Methionins bezüglich der Metabolisierbarkeit konnte durch einen Anstieg der Blutplasmakonzentrationen klar aufgezeigt werden. Der dritte Versuch verdeutlichte, dass Kühe am Beginn der Laktation ohne grössere negative Effekte auf Stoffwechsel und Leistung mit Niedrigproteinrationen gefüttert werden können, wenn solche Rationen mit pansengeschützten Aminosäuren und pansenabbaubarem Protein ausbalanciert werden. Weiterhin schien eine Ergänzung der Niedrigproteinration mit Methionin die Verwertung des aufgenommenen Stickstoffes zusätzlich zu steigern und ebenso waren die Stickstoffverluste aus den Ausscheidungen verringert.