

Aus dem Institut für Tierphysiologie und Tierernährung
der Georg-August-Universität Göttingen

**Untersuchungen zum leistungsabhängigen Bedarf an Lysin, Methionin/Cystin und
Threonin von Nil-Tilapien auf Grundlage der Aminosäure-Wirksamkeit
in ausgewählten Proteinträgermischungen**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Agrarwissenschaften
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von
Kay Benkendorff
geboren in Elmshorn

Göttingen, November 2004

D7

Referent: Prof. Dr. habil. F. Liebert

Korreferentin: Prof. Dr. G. Hörstgen-Schwark

Tag der mündlichen Prüfung: 12.11.2004

INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung	1
2 Literaturüberblick	3
2.1 Proteinstoffwechsel von Fischen	4
2.1.1 Proteinturnover und Stickstoff-Fluß	4
2.1.2 Methoden zur experimentellen Bestimmung des Stickstoff-Flusses	5
2.1.3 Pools freier Aminosäuren	10
2.1.3.1 Pools freier Aminosäuren im Plasma	10
2.1.3.2 Pools freier Aminosäuren im Körpergewebe	12
2.1.4 Regulation des Aminosäure- und Proteinpools	14
2.1.4.1 Gewebespezifische Differenzierung	14
2.1.4.2 Nahrungsbezogene Einflußgrößen	16
2.1.4.2.1 Futterrationen unterhalb des Erhaltungsbedarfs	16
2.1.4.2.2 Futterrationen oberhalb des Erhaltungsbedarfs	17
2.1.4.2.3 Protein- und Energieniveau der Diät	18
2.1.4.2.4 Proteinqualität	19
2.1.4.2.5 Reversibilität von Aminosäure-Imbalanzen	21
2.1.4.3 Ernährungsunabhängige Einflußgrößen	22
2.2 Studien zum Aminosäurebedarf bei Fischen	24
2.2.1 Qualitativer Aminosäurebedarf	24
2.2.2 Quantitativer Aminosäurebedarf	25
2.2.2.1 Wahlversuche	25
2.2.2.2 Aminosäure-Zusammensetzung von Körpergeweben	26
2.2.2.2.1 Aminosäure-Zusammensetzung von Ganzkörper und Eiern	26
2.2.2.2.2 Ansatz essentieller Aminosäuren	28
2.2.2.2.3 Idealprotein-Konzept	29
2.2.2.2.4 Essentielles Aminosäure-Verhältnis ("A/E"-Verhältnis)	29
2.2.2.2.5 Zusammenfassende Beurteilung der Methode zur Bedarfsabschätzung	31
2.2.2.3 Dosis-Wirkungsversuche	32
2.2.2.3.1 Klassische Methodik	32
2.2.2.3.2 Weiterentwicklung der Diätkonzeption	34

2.2.2.3.3 Mathematische Auswertung	35
2.2.2.3.4 Serum- bzw. Plasmagehalte freier essentieller Aminosäuren als Kriterien der Bedarfsdeckung	36
2.2.2.3.5 Ergänzende biochemisch-physiologische Verfahren	37
2.2.2.3.6 Exponentielles N-Verwertungsmodell	38
3 Material und Methoden	40
3.1 Experimentelle Einrichtungen	40
3.2 Tiermaterial	43
3.3 Versuchsdäten	44
3.3.1 Mischungskonzeption	44
3.3.1.1 Proteinquellen	44
3.3.1.2 Energieträger, Mineralien und Vitamine	45
3.3.2 Herstellung	46
3.3.3 Versuchsdäten	47
3.3.3.1 Lysin-limitierte Futtermischungen	47
3.3.3.2 Lysin-limitierte Futtermischungen mit unterschiedlichen Erbsenchargen	48
3.3.3.3 Methionin/Cystin-limitierte Futtermischungen	51
3.3.3.4 Threonin-limitierte Futtermischungen	53
3.4 Versuchsdurchführung - Beckenbesetzung und Probennahme	55
3.5 Analytik	56
3.5.1 Physico-chemische Parameter der Anlagenwasserkörper	56
3.5.2 Analytische Aufarbeitung der Einzelkomponenten und der Futtermischungen	56
3.5.2.1 Gehalt an Trypsin-Inhibitoren	56
3.5.2.2 Bruttoenergie (GE) und umsetzbare Energie (ME)	57
3.5.2.3 Rohnährstoffe und Aminosäuren	57
3.5.3 Ganzkörperanalysen	59
3.6 Berechnete Parameter	59
3.6.1 Wachstum, Futteraufnahme, Futteraufwand und Proteinverwertung	59
3.6.2 Modellberechnungen	61
3.7 Mathematisch-statistische Auswertung	64

4 Ergebnisse	65
4.1 Lysin	65
4.1.1 Ermittlung der Lysinwirksamkeit in verschiedenen Futtermischungen	65
4.1.2 Sortenabhängige Variabilität der Lysinwirksamkeit innerhalb einer Futtermischung	71
4.1.3 Ableitungen zum Lysinbedarf	74
4.2 Methionin/Cystin	75
4.2.1 Ermittlung der Methionin/Cystin-Wirksamkeit in verschiedenen Futtermischungen	75
4.2.2 Ableitungen zum Methionin/Cystin-Bedarf	78
4.3 Threonin	80
4.3.1 Ermittlung der Threoninwirksamkeit in verschiedenen Futtermischungen	80
4.3.2 Ableitungen zum Threoninbedarf	83
5 Diskussion	85
5.1 Ursachen für die hohe Variabilität der ermittelten Ergebnisse zur Aminosäure-Wirksamkeit	85
5.1.1 Individuelle Variationen im Proteinturnover	86
5.1.2 Ausbildung von sozialen Hierarchien	89
5.2 Bewertung des Einsatzes von kristallinen Aminosäuren zum Nachweis einer Aminosäure-Limitation	94
5.3 Einordnung und Bewertung der berechneten Aminosäure-Bedarfswerte	100
5.3.1 Vergleichende Bewertung der bislang eingesetzten Methoden zur Ableitung des Aminosäurebedarfs bei Nil-Tilapien	100
5.3.2 Vergleich der Bedarfsangaben zu den erstlimitierenden Aminosäuren	103
5.4 Schlußfolgerungen	107
6 Zusammenfassung	108
7 Summary	111
8 Literaturverzeichnis	114
9 Tabellenanhang	141

Tabellenverzeichnis

Tab. 3.1: Ausgewählte Angaben zum Versuchsplan des Projektes	43
Tab. 3.2: Zusammensetzung des Vitamin- und Spurenelement-Premixes	46
Tab. 3.3: Zusammensetzung der Lysin-limitierten Futtermischungen (g/kg)	47
Tab. 3.4: Rohrnährstoff- und Energiegehalte (% TS) sowie Protein:Energie-Verhältnis der Futtermischungen	48
Tab. 3.5: Kalkulierte Bedarfsdeckung an ausgewählten essentiellen Aminosäuren (%)	48
Tab. 3.6: Zusammensetzung der Lysin-limitierten, erbsenhaltigen Futtermischungen (g/kg)	49
Tab. 3.7: Übersicht über die verwendeten Erbsensorten	50
Tab. 3.8: Rohrnährstoff- und Energiegehalte (% TS) sowie Protein:Energie-Verhältnis der Futtermischungen	50
Tab. 3.9: Kalkulierte Bedarfsdeckung an ausgewählten essentiellen Aminosäuren (%)	50
Tab. 3.10: Rohrnährstoff- und Energiegehalte (% TS) sowie Protein:Energie-Verhältnis der Futtermischungen	51
Tab. 3.11: Zusammensetzung der Methionin/Cystin- und Lysin-limitierten Futtermischungen (g/kg)	52
Tab. 3.12: Kalkulierte Bedarfsdeckung an ausgewählten essentiellen Aminosäuren (%)	52
Tab. 3.13: Zusammensetzung der Threonin- und Lysin-limitierten Futtermischungen (g/kg)	53
Tab. 3.14: Rohrnährstoff- und Energiegehalte (% TS) sowie Protein:Energie-Verhältnis der Futtermischungen	54
Tab. 3.15: Kalkulierte Bedarfsdeckung an ausgewählten essentiellen Aminosäuren (%)	54
Tab. 3.16: Gehalt an Trypsin-Inhibitoren in den eingesetzten Sojaproteinen	57
Tab. 4.1: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verfütterung Lysin-limitierter Futtermischungen	66
Tab. 4.2: Parameter der Proteinverwertung nach Verfütterung der Lysin-limitierten Diäten	67

Tab. 4.3: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-limitierten Mischungen	68
Tab. 4.4: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verfütterung Lysin-limitierter erbsenhaltiger Futtermischungen	71
Tab. 4.5: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung Lysin-limitierter erbsenhaltiger Futtermischungen	72
Tab. 4.6: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-limitierten erbsenhaltigen Mischungen	73
Tab. 4.7: Kalkulierter Lysinbedarf in Abhängigkeit von Proteinansatz und Lysinwirksamkeit der eingesetzten Futtermischung	74
Tab. 4.8: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verfütterung Methionin/Cystin-limitierter Futtermischungen	76
Tab. 4.9: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Methionin/Cystin-limitierten Diäten	76
Tab. 4.10: Berechnung der Modellparameter für die Methionin/Cystin-limitierten Mischungen	77
Tab. 4.11: Kalkulierter Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren in Abhängigkeit von Proteinansatz und Met/Cys-Wirksamkeit der eingesetzten Futtermischung	78
Tab. 4.12: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verfütterung Threonin-limitierter Futtermischungen	80
Tab. 4.13: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Threonin-limitierten Diäten	81
Tab. 4.14: Berechnung der Modellparameter für die Threonin-limitierten Mischungen	82
Tab. 4.15: Kalkulierter Threoninbedarf in Abhängigkeit von Proteinansatz und Threoninwirksamkeit der eingesetzten Futtermischung	83
Tab. 5.1: Angaben zum Aminosäurebedarf von Nil-Tilapien und Charakteristik wichtiger methodischer Parameter	101
Tab. 5.2: Optimales M: C-Verhältnis in Diäten für verschiedene Fischarten	105

Tabellenverzeichnis des Anhangs

Tab. A1: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verabreichung Lysin-supplementierter Futtermischungen	141
Tab. A2: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Lysin-supplementierten Diäten	141
Tab. A3: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-supplementierten Mischungen	141
Tab. A4: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verabreichung Lysin-supplementierter erbsenhaltiger Futtermischungen	142
Tab. A5: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung Lysin-supplementierter erbsenhaltiger Diäten	142
Tab. A6: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-supplementierten erbsenhaltigen Mischungen	142
Tab. A7: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verabreichung Methionin-supplementierter Futtermischungen	142
Tab. A8: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Methionin-supplementierten Diäten	142
Tab. A9: Berechnung der Modellparameter für die Methionin-supplementierten Mischungen	143
Tab. A10: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verabreichung Threonin-supplementierter Futtermischungen	143
Tab. A11: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Threonin-supplementierten Diäten	143
Tab. A12: Berechnung der Modellparameter für die Threonin-supplementierten Mischungen	143
Tab. A13: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen zu Versuchsbeginn (Nullgruppe), nach Ablauf von 28 Tagen sowie am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Lysin-limitierten Futtermischungen	144
Tab. A14: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Lysin-supplementierten Futtermischungen (Angaben in % TS)	144

Tab. A15: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen zu Versuchsbeginn (Nullgruppe), nach Ablauf von 28 Tagen sowie am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Lysin-limitierten erbsenhaltigen Futtermischungen	145
Tab. A16: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Lysin-supplementierten erbsenhaltigen Futtermischungen (Angaben in % TS)	145
Tab. A17: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen zu Versuchsbeginn (Nullgruppe), nach Ablauf von 28 Tagen sowie am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Methionin/Cystin-limitierten Futtermischungen	146
Tab. A18: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Methionin-supplementierten Futtermischungen (Angaben in % TS)	146
Tab. A19: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen zu Versuchsbeginn (Nullgruppe), nach Ablauf von 28 Tagen sowie am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Threonin-limitierten Futtermischungen	147
Tab. A20: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Threonin-supplementierten Futtermischungen (Angaben in % TS)	147
Tab. A21: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verfütterung Lysin-limitierter Futtermischungen nach 28 Tagen	147
Tab. A22: Parameter der Proteinverwertung nach Verfütterung Lysin-limitierter Diäten nach 28 Tagen	148
Tab. A23: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-limitierten Mischungen nach 28 Tagen	148
Tab. A24: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futtermittelnutzung nach Verfütterung Lysin-limitierter erbsenhaltiger Futtermischungen nach 28 Tagen	149
Tab. A25: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung Lysin-limitierter erbsenhaltiger Diäten nach 28 Tagen	149

Tab. A26: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-limitierten erbsenhaltigen Mischungen nach 28 Tagen	149
Tab. A27: Kalkulierter Lysinbedarf in Abhängigkeit von Proteinansatz und Lysin-Wirksamkeit der eingesetzten Futtermischung	150
Tab. A28: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermischung nach Verfütterung Methionin/Cystin-limitierter Futtermischungen nach 28 Tagen	150
Tab. A29: Parameter der Proteinverwertung nach Verfütterung Methionin/Cystin-limitierter Diäten nach 28 Tagen	150
Tab. A30: Berechnung der Modellparameter für die Methionin/Cystin-limitierten Mischungen nach 28 Tagen	151
Tab. A31: Kalkulierter Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren in Abhängigkeit von Proteinansatz und Wirksamkeit der eingesetzten Futtermischung	151
Tab. A32: Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme und Futtermischung nach Verfütterung Threonin-limitierter Futtermischungen nach 28 Tagen	151
Tab. A33: Parameter der Proteinverwertung nach Verfütterung Threonin-limitierter Diäten nach 28 Tagen	152
Tab. A34: Berechnung der Modellparameter für die Threonin-limitierten Mischungen nach 28 Tagen	152
Tab. A35: Kalkulierter Threoninbedarf in Abhängigkeit von Proteinansatz und Threonin-Wirksamkeit der eingesetzten Futtermischung	152

Abbildungsverzeichnis

Abb. 3.1: Neue Warmwasser-Kreislaufanlage des Instituts für Tierphysiologie und Tierernährung (Anlage 2)	42
Abb. 4.1: Abschätzung eines Grenzbereiches für den erforderlichen N-Ansatz mittels "broken-line"-Analyse	70

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
A/E-Verhältnis	essentielles Aminosäureverhältnis
AS	Aminosäure
°C	Grad Celsius
CMC	Carboxymethylcellulose
Cys	Cystin
d	Tag
DCP	Dicalciumphosphat
DL-Met	DL-Methionin
FA	Futteraufnahme
FS	Frischsubstanz
g	Gramm
GE	Bruttoenergie
I. E.	Internationale Einheiten
kg	Kilogramm
kJ	Kilojoule
K ₂ SO ₄	Kaliumsulfat
LAS	Limitierende Aminosäure
L-Lys · HCl	L-Lysin-Monohydrochlorid
LM	Lebendmasse
LM _{kg} ^{0,67}	Metabolische Lebendmasse
Lys	Lysin
L-Lys	L-Lysin
L-Thr	L-Threonin
mcg	Mikrogramm
ME	Umsetzbare Energie
Met	Methionin
mg	Milligramm
MgO	Magnesiumoxid
MJ	Megajoule
MW	Mittelwert

N	Stickstoff
NEB	Stickstofferhaltungsbedarf
NfE	N-freie Extraktstoffe
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PD _{max} T	Tägliches maximales theoretisches Proteinretentionsvermögen
P:E	Protein-zu-Energie-Verhältnis
PER	Proteinwirkungsverhältnis
PPW	Produktiver Proteinwert
PNU	Physiologischer Nutzwert
SD	Standardabweichung
SGR	Spezifische Wachstumsrate
Tab.	Tabelle
Thr	Threonin
TS	Trockensubstanz
V2	Versuch 2
V3	Versuch 3
VDLUFA	Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
XA	Rohasche
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein
XX	N-freie Extraktstoffe

1 Einleitung

Die Haltung von Nil-Tilapien repräsentiert einen bedeutenden Bereich der Aquakultur, der im Jahr 2002 eine Gesamtproduktion von 1.217.055 t in einem Gesamtwert von 1,34 Mrd US\$ umfaßte (FAO 2004). Eine Vielzahl von kostengünstigen, pflanzlichen Futterquellen stehen neben Fischmehl zur Deckung des Proteinbedarfs von Nil-Tilapien zur Verfügung (JAUNCEY 1998; EL-SAYED 1999). Hohe Temperaturen bei der Verarbeitung pflanzlicher wie tierischer Proteinquellen können zur Ausbildung von enzymatisch kaum angreifbaren chemischen Bindungen wie Disulfidbrücken zwischen Proteinketten, zur Oxidation der Aminosäuren Lysin, Methionin, Cystin und Tryptophan sowie zur Maillardreaktion des Lysins führen (VIOLA et al. 1983; ANDERSON et al. 1993, 1995). Als Folge ist die Verfügbarkeit der genannten Aminosäuren für den tierischen Organismus herabgesetzt. Vorrangiges Ziel der Beurteilung der Aminosäure-Wirksamkeit ist, bei der Verdauung und in der intermediären Verwertung entstehende Verluste von Nahrungsaminosäuren für den Proteinansatz zu quantifizieren.

Fische haben keinen Bedarf an Proteinen an sich, sondern an einem ausgewogenen Verhältnis von essentiellen Aminosäuren (DE SILVA & ANDERSON 1995; WILSON 2002). Eine genaue Kenntnis des Bedarfs an essentiellen Aminosäuren sowie deren Verfügbarkeit für den Organismus ist notwendig, da eine Aminosäure-Imbalanz in der Nahrung zu einer Senkung der Proteinsynthese auf ein durch die erstlimitierende Aminosäure vorgegebenes Niveau führt (DE LA HIGUERA et al. 1998). Folglich kann das Leistungspotential der Tiere bei einer defizitären Aminosäure-Versorgung nicht ausgeschöpft werden. Zudem zieht eine Katabolisierung der überschüssigen Aminosäuren eine ineffiziente Nutzung des Futterproteins verbunden mit einer erhöhten N-Exkretion nach sich.

Aktuelle Studien zum Lysin- und Threoninbedarf von wachsenden Schweinen (THONG & LIEBERT 2004a, b) unterlegen die Eignung des exponentiellen N-Verwertungsmodells (GEBHARDT 1966; LIEBERT & GEBHARDT 1986) zur Ableitung eines nach Leistung und Verfügbarkeit der Futteraminosäuren differenzierten Aminosäurebedarfs von wachsenden Monogastriern. In Anlehnung daran war das Ziel der vorliegenden Arbeit, Erkenntnisse hinsichtlich der Einsatzmöglichkeiten des

N-Verwertungsmodells zur Beurteilung der Aminosäure-Wirksamkeit und dem daraus ableitbaren leistungsbezogenen Bedarf an häufig erstlimitierenden Aminosäuren in praxisrelevanten Futtermischungen für Nil-Tilapien zu gewinnen.

Aufbauend auf Angaben zum maximalen theoretischen N-Retentionsvermögen von Nil-Tilapien durch MOHAMED (2002), wurde experimentell die Lysin-, Methionin/Cystin- und Threonin-Wirksamkeit in Diäten für Nil-Tilapien des gleichen Genotyps ermittelt, auf deren Grundlage leistungsabhängige Kalkulationen zum Aminosäurebedarf durchgeführt wurden.

2 Literaturüberblick

Ziel des Literaturüberblicks ist, eine Übersicht über den aktuellen Kenntnisstand zu zwei Schwerpunkten der proteinbezogenen Ernährungsphysiologie von Fischen zu vermitteln:

- Wechselwirkungen zwischen anabolen und katabolen Prozessen im Proteinstoffwechsel von Fischen unter besonderer Berücksichtigung von Ernährungsfaktoren (Kap. 2.1)
- Aminosäurebedarf für das Wachstum von Fischen und die zugrundeliegenden Bestimmungsmethoden (Kap. 2.2)

Da in allen aufgeführten Bereichen eine begrenzte Anzahl an Untersuchungen über Tilapien vorzufinden ist, wurde es notwendig, andere kultivierte Fischarten bei der Bewertung der Literatur zu berücksichtigen, obwohl durchaus z. T. mit artspezifischen Besonderheiten, wie beispielsweise bei der Verwertung von kristallinen Aminosäuren, auszugehen ist.

2.1 Proteinstoffwechsel von Fischen

Der erste Teil des Literaturüberblicks behandelt den Stickstoff-Fluß im Fischorganismus, den zur Verfügung stehenden experimentellen Methoden zu dessen Quantifizierung sowie den Parametern, die Einfluß nehmen auf die Regulation der Aminosäure- und Proteinpools.

2.1.1 Proteinturnover und Stickstoff-Fluß

Der Proteinansatz steht unter der Kontrolle von zwei Prozessen: Proteinsynthese und Proteindegradation (FAUCONNEAU 1985; HOULIHAN et al. 1986; HOULIHAN et al. 1995). Übersteigt die Proteinsyntheserate die des Proteinabbaus resultiert dieses in einer Deposition von Proteinen im Gewebe, so daß Gewebewachstum stattfinden kann. Übertrifft der Abbau von Proteinen hingegen die Synthese, so kommt es zu einem Verlust von Proteinen und damit zu einem negativen Wachstum. Bei wachsenden Tieren ist der Protein-Turnover ein wichtiger Indikator für die Wachstumseffizienz, mit der Futterproteine in körpereigenes Gewebe integriert werden (CARTER et al. 1998).

Modellhaft können die Stickstoff-Flüsse im Ganzkörper von Fischen mit Hilfe der von MILLWARD & RIVERS (1988) vorgeschlagenen Modellierung quantifiziert werden. Im Zentrum befindet sich ein Kreislauf aus einem Pool freier Aminosäuren sowie einem Proteinpool, die durch den Auf- bzw. Abbau von Proteinen und dem damit verbundenen Entzug bzw. der Rezyklierung von Aminosäuren miteinander verbunden sind. Absorbierte Futteramino-säuren treten über den Pool freier Aminosäuren in diesen Zyklus ein und werden alternativ entweder zum Zweck der Energiegewinnung metabolisiert oder durch den Prozeß der Proteinsynthese dem Proteinpool zugeführt. Dem Proteinpool wiederum werden Proteine entzogen, um sie entweder in Geweben festzulegen (Proteinansatz) oder als Aminosäuren dem Pool freier Aminosäuren zurückzuführen. Trotz seiner vereinfachenden Darstellungsweise, bei der nicht zwischen intra- und extrazellulären Pools differenziert wird, erlaubt das Modell eine Bilanzierung der Stickstoff-Flüsse sowie eine Beschreibung der Dynamik der einzelnen Pools auf der Basis von experimentell ermittelten Werte (HOULIHAN et al. 1995). Auch differenzierte Sytheseraten verschiedener Gewebetypen als Reaktion auf eine Zufuhr von Futteramino-säuren werden nicht berücksichtigt.

Einige Beispiele für Stickstoff-Flüsse bei unterschiedlichen Fischarten vermitteln einen Eindruck der Dynamik: HOULIHAN et al. (1995) quantifizierten den Stickstoff-Fluß einer 80g schweren, wachsenden Regenbogenforelle, die täglich eine kommerzielle Diät in Höhe von 1,4% der Lebendmasse erhielt. Dabei flossen 87% der absorbierten Aminosäuren in die Proteinsynthese. Die Effizienz der Proteinretention, definiert als Proteinzuwachs in bezug zur Proteinaufnahme, wurde mit 32% bestimmt, während 57% des neu synthetisierten Proteins wieder abgebaut wurde und in den freien Aminosäurepool rezyklierte. Der Stickstoffverlust wurde mit 63% des absorbierten Stickstoffs beziffert. Eine Studie von HOULIHAN et al. (1988) mit Atlantischem Kabeljau (*Gadus morhua*) kam zu dem Ergebnis, daß jedem Gramm aufgenommenen Proteins dieselbe Menge an synthetisiertem Protein gegenüberstand. Die von OWEN et al. (1999) bei 37g schweren Atlantischen Lachsen ermittelten Werte zeigten, daß pro Gramm aufgenommenen Futterproteins 0,72g körpereigenes Protein synthetisiert, von dem wiederum 0,36g im Gewebe festgelegt wurde. Flundern (*Pleuronectes flesus*) mit einer Lebendmasse von 50g nahmen durchschnittlich 142 mg Protein auf und synthetisierten nahezu eine vergleichbare Menge (140 mg) körpereigenes Protein, von dem 92 mg abgebaut sowie 48 mg im Gewebe festgelegt wurden (CARTER et al. 1998). Der Stickstoffverlust wurde mit insgesamt 9,5 mg angegeben. Die hohe Dynamik des Aminosäurepools, die für Fische charakteristisch ist, wird im besonderen bei juvenilen Individuen deutlich. CONCEIÇÃO et al. (1997) untersuchten auf täglicher Basis den Aminosäure-Fluß bei Larven des Steinbutts (*Scophthalmus maximus*), die mit Zooplanktern gefüttert wurden. Die tägliche Aufnahme an Aminosäuren übertraf den Pool freier Aminosäuren um nahezu das 12fache, während der Abzug durch Proteinsynthese und Rezyklierung durch Proteindegradation eine Größenordnung vom 20 bzw. 10fachen des freien Aminosäurepools erreichte. Über 90% des aufgenommenen Proteins wurde in diesem frühen Lebensstadium in Proteinansatz überführt.

2.1.2 Methoden zur experimentellen Bestimmung des Stickstoff-Flusses

Messungen der Proteinsyntheserate bei Fischen - Voraussetzung für die Beschreibung der für einige Arten oben näher ausgeführten Stickstoffflüsse - können unter Verwendung verschiedener Methoden durchgeführt werden, die der Forschung mit Säugetieren entlehnt wurden (HOULIHAN et al. 1995). Bei den invasiven Methoden wird eine radioaktiv markierte Aminosäure mittels konstanter Infusion oder einer einmaligen

intravenösen bzw. intraperitonealen Injektion einer hohen Dosis ("flooding dose") verabreicht. Lediglich die Applikation einer Mikroinjektion in Larven von Regenforellen (MATHERS et al. 1993) oder das Baden von larvalen Spiegelkarpfen einer Lebendmasse von 50 mg (FAUCONNEAU 1984) oder von Störlarven (*Acipenser baeri*) (FAUCONNEAU et al. 1986) in einer Lösung aus L-[¹⁴C]-Arginin stellen fischspezifische Weiterentwicklungen der genannten Techniken dar, die bei einer Lebendmasse von <1g zum Einsatz kommen können.

Bei größeren Individuen konnten HASCHEMEYER & SMITH (1979) sowie SMITH (1981) die *in vivo* Proteinsynthese verschiedener Gewebe mittels einer konstanten Infusion von [¹⁴C]-Tyrosin bei Meeräschen (*Mugil cephalus*) bzw. bei Regenbogenforellen bestimmen.

Die weitaus häufiger verwendete Methode einer einmaligen Injektion einer hohen Dosis einer radioaktiv markierten Aminosäure, die auf Untersuchungen von GARLICK et al. (1980) an Säugetieren basiert, führt zu einer Flutung des freien Gewebepools. MCCARTHY et al. (1995) beobachteten bei dieser Technik eine 12fache Erhöhung des Pools freien Phenylalanins in der Muskulatur von Regenbogenforellen. Die Proteinsyntheserate wird aus der Kinetik des linearen Einbaus der spezifischen Radioaktivität in körpereigenes Protein bestimmt. Auf diese Weise durchgeführte Messungen sind auf wenige Stunden begrenzt, weil die spezifische Radioaktivität im Pool freier Aminosäuren mit fortschreitender Dauer abnimmt (CARTER et al. 1994). Nach HOULIHAN et al. (1995) können verlässliche Messungen in einem Zeitfenster von 40 min bis zu 6 h durchgeführt werden. Eine zeitliche Begrenzung ist besonders hinsichtlich der Verwendung kleiner Fische notwendig, um einen Einfluß einer besonderen Stoffwechselsituation (Fasten) oder einen wiederholten Einbau der markierten Aminosäure durch Rezyklierung auszuschließen (FAUCONNEAU 1984). Hinzu kommt, daß die Proteinsynthese täglichen Schwankungen als Folge post-prandialer Stimulation unterliegt, die mittels einer invasiven Methode mit ihrer kurzzeitigen Ausrichtung nur bedingt mit Langzeitmessungen des Proteinzuwachses in Übereinstimmung gebracht werden kann (CARTER et al. 1994).

Nach OWEN et al. (1999) stützt sich die Verwendung der genannten Technik auf folgende Annahmen:

- Die Präsenz einer hohen intrazellulären Konzentration einer einzigen Aminosäure beeinträchtigt nicht die Proteinsyntheserate.
- Die markierte Aminosäure vermischt sich rasch mit dem intrazellulären Pool freier Aminosäuren.
- Die Anreicherung des intrazellulären freien Aminosäurepools bleibt während der Inkorporationszeit stabil oder nimmt nur langsam linear ab.
- Die Anreicherung des Körperproteins mit der markierten Aminosäure verhält sich linear über den Inkorporationszeitraum.

Der bei weitem am häufigsten verwendete Marker ist L-[³H]-Phenylalanin. HOULIHAN et al. (1994) führten den Beweis, daß auch eine intraperitoneale Injektion von [³H]-Phenylalanin zu einer erfolgreichen Anreicherung dieser Aminosäure in den Geweben sowie zu einer linearen Markierung der synthetisierten Proteine führt. Dieser Marker kam bisher in Form einer Injektion zur Untersuchung der Proteinsyntheserate von Regenbogenforellen (HOULIHAN et al. 1986; MCMILLAN & HOULIHAN 1989; GARZÓN et al. 1994, PERAGÓN et al. 1994; FAUCONNEAU et al. 1995; MORGAN et al. 1999; PERAGÓN et al. 1999), Atlantischen Lachsen (CARTER et al. 1993b; RUNGRUANGSAK-TORRISSEN et al. 1999), Kabeljaus (*Gadus morhua*) (HOULIHAN et al. 1989; FOSTER et al. 1992), Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*) (LANGAR et al. 1993; LANGAR & GUILLAUME 1994), Seezungen (*Limanda limanda*) (HOULIHAN et al. 1994), Europäischen Aalen (DE LA HIGUERA et al. 1999), Spiegelkarpfen (DE LA HIGUERA et al. 1998), Graskarpfen (*Ctenopharyngodon idella*) (CARTER et al. 1993a) und Nil-Tilapien (HOULIHAN et al. 1993) zum Einsatz. Zusätzlich setzten HOULIHAN et al. (1993) ein Bad in einer Lösung von L-[³H]-Phenylalanin ein, um die Proteinsyntheserate von Nil-Tilapien einer Lebendmasse von 15 mg zu bestimmen. Auch CONCEIÇÃO et al. (1997) verwendeten diesen Marker für die Untersuchung des Protein-Turnovers von Larven des Steinbutts (*Scophthalmus maximus*).

Darüber hinaus kamen in wenigen Fällen andere radioaktiv-markierte Aminosäuren zum Einsatz. Als Beispiele hierfür seien L-[¹⁴C]-Leucin bei Regenbogenforellen

(FAUCONNEAU & ARNAL 1985) und L-[³H]-Leucin bei Atlantischen Lachsen (FAUCONNEAU et al. 1989), [¹⁴C]-Glycin bei Golf-Killifischen (*Fundulus grandis*) (NEGATU & MEIER 1993) und L-[¹⁴C]-Lysin bei Atlantischen Lachsen (SVEIER et al. 2000) aufgeführt.

LIED et al. (1982) entwickelten eine *in vitro* Methode, um die Proteinsynthese-Aktivität an isolierten Ribosomen des Gewebes der Fischmuskulatur zu bestimmen. Als Marker wurde L-[¹⁴C]-Phenylalanin verwendet. Diese Technik wurde von LIED & ROSENLUND (1984) sowie ROSENLUND et al. (1984) angewendet, um Aussagen zur Proteinsynthese von Kabeljau (*Gadus morhua*) oder Seelachs (*Pollachius virens*) in Abhängigkeit von der Energiebereitstellung des Futters abzuleiten. SMITH et al. (2000) setzten [³H]-Phenylalanin ein, um die Proteinsynthese von Fibroblasten *in vitro* im Verhältnis zur Synthese von RNA zu beobachten.

Eine Weiterentwicklung erfuhr die Bestimmung der Proteinsynthese von Fischen durch CARTER et al. (1994). Diese Methode basierend auf einem Endprodukt-stochastischen Modell (WATERLOW et al. 1978), bei der Fischen einmalig ein Futterprotein mit einem stabilen ¹⁵N-Isotop über die Nahrung verabreicht wurde. Diese Isotopen-Bilanzierungsmethode (Einzeldosis ¹⁵N/Endprodukt NH₄⁺-Methode) kann als geeignet betrachtet werden, um routinemäßig den Protein-Turnover von Fischen zu untersuchen (MEYER-BURGDORFF & ROSENOW 1995a). Als Grundlage der Berechnung der Proteinsyntheserate dient die Anreicherung der Ammonium-Exkretionen mit ¹⁵N. MEYER-BURGDORFF & ROSENOW (1995a) fassen die Annahmen zusammen, die bei einer einmaligen Gabe des ¹⁵N-Futterproteins erfüllt sein müssen:

- Der Isotopen-Stoffwechsel repräsentiert den Stickstoff-Turnover.
- Die Messung ist auf ein Zeitintervall beschränkt, das die Rezyklierung des Isotops ausschließt.
- Die Größe des Pools freier Aminosäuren bleibt konstant.

Ein Vorteil dieser Methode gegenüber der Injektion einer Einmal-Dosis liegt darin, daß die Synthese von Proteinen über einen vergleichsweise langen Zeitraum von 24 - 48 h beobachtet werden kann und damit zugleich eine tägliche Rhythmik des Proteinstoffwechsels integriert wird (CARTER et al. 1994). Zudem handelt es sich um eine nicht-

invasive, nicht-destruktive Technik, die zur Klärung von Fragestellungen genutzt werden kann, die Mehrfachbestimmungen des Protein-Turnovers eines Individuums erfordern (CARTER et al. 1998). Die Verwendung von stabilen Isotopen hat gegenüber radioaktiven Markierungen weiterhin den Vorteil, daß sie sowohl unter Labor- als auch unter Praxisbedingungen, die eine Freisetzung von Radioaktivität ausschließen, eingesetzt werden kann.

Diese Methode kam bisher zum Einsatz bei Regenbogenforellen (CARTER et al. 1994; DOBLY et al. 2004), Spiegelkarpfen (MEYER-BURGDORFF & ROSENOW 1995a, b, c); Flundern (*Pleuronectes flesus*) (CARTER et al. 1998) und Grünrücken-Flundern (*Rhombosolea tapirina*) (CARTER & BRANSDEN 2001).

Eine Weiterentwicklung stellt die von OWEN et al. (1999) getestete Methode dar, bei der Atlantischen Lachsen mittels Injektion die mit einem stabilen Isotop markierte Aminosäure L-[¹⁵N]-Phenylalanin appliziert wurde ("flooding dose"). Die Beobachtung des Einbaus des stabilen Isotops in körpereigenes Protein erfolgte in dieser Arbeit über ein massenspektrometrisches Verfahren.

Vergleichsweise wenig ist über die Mechanismen der Proteindegradation bei Fischen bekannt (HOULIHAN et al. 1995), so daß direkte Messungen bei Fischen bisher nicht durchgeführt wurden. In den oben genannten Studien wurde der Proteinabbau als Differenz aus Proteinsynthese und Proteinzuwachs bestimmt. Mit dieser Verfahrensweise kann jedoch lediglich eine Näherung erreicht werden, da beide Parameter in unterschiedlichen experimentellen Zeitintervallen bestimmt werden (HOULIHAN et al. 1995).

2.1.3 Pools freier Aminosäuren

Dieser Abschnitt behandelt die Pools freier Aminosäuren im Plasma sowie im Körpergewebe von Fischen.

2.1.3.1 Pools freier Aminosäuren im Plasma

Der gesamte Pool freier Aminosäuren bei Fischen ist in kleinere Pools unterteilt, die über das Blutsystem miteinander verbunden sind und gewebespezifisch eine unterschiedliche Zusammensetzung aufweisen (JÜRSS & BASTROP 1995). Der freie Aminosäurepool ist bei Fischen nur von geringer Größe und beträgt bei großen Individuen mit einer Lebendmasse von mehr als 500 g ca. 2% des Proteinpools (HOULIHAN et al. 1995). Der Einstrom von Futteramino­säuren ist daher bedeutend und nimmt näherungsweise das Doppelte des Pools freier Aminosäuren ein.

Nach der Hydrolyse der Futterproteine im Verdauungstrakt werden die Aminosäuren absorbiert und über das hepatische Portalsystem der Leber zugeführt, dem Zentrum der Aminosäure-Katabolisierung (WALTON 1985). Dieses Organ kontrolliert darüber hinaus die Abgabe der Aminosäuren in den weiteren Blutkreislauf. Von Konzentrationsänderungen sind nach einer Fütterung im wesentlichen die Plasma-Aminosäuren als Reaktion auf den Transport der Futteramino­säuren betroffen (WALTON & WILSON 1986; LYNDON et al. 1993). Das Aminosäuremuster im Blut reflektiert das Ergebnis des Zusammenwirkens von Verdauung und Absorption sowie der nachfolgenden Nutzung der Aminosäuren im Organismus (WILSON et al. 1985) und weist demzufolge eine hohe zeitliche Differenzierung auf. Die zugrunde liegenden Regelungsmechanismen aus Proteinsynthese und Aminosäure-Oxidation werden bisher nicht in ihrer Gesamtheit verstanden (HOULIHAN et al. 1995). Das Muster des freien Plasma-Aminosäure-Pools liefert jedoch Hinweise zum Ernährungszustand von Fischen und kann helfen, die komplexen Zusammenhänge des Aminosäure-Stoffwechsels aufzudecken (NAVARRO et al. 1997).

Es besteht eine hohe Korrelation zwischen dem Muster essentieller Aminosäuren im Futter und dem postprandialen Muster essentieller Aminosäuren im Plasma bzw. Serum von Fischen (SCHLISIO & NICOLAI 1978; PLAKAS et al. 1980; WILSON et al. 1985; OGATA 1986; WALTON & WILSON 1986; LYNDON et al. 1993;

SCHUHMACHER et al. 1995; YAMAMOTO et al. 2000). WILSON et al. (1985) konnten eine positive Korrelation zwischen den Mustern der essentiellen Aminosäuren im Futterprotein und im Serum von Nordamerikanischen Welsen feststellen, die nicht vom Protein: Energie-Verhältnis des Futters beeinflusst wurde. Eine Korrelation der korrespondierenden Muster nicht-essentieller Aminosäuren im Futter sowie im Plasma wurde bisher nicht beobachtet (SCHLISIO & NICOLAI 1978; PLAKAS et al. 1980; WILSON et al. 1985; ESPE et al. 1993). Aufgrund der engen Beziehung zwischen essentiellen Futter- und Plasma-Aminosäuren kann das Aminosäuremuster im Plasma zur Bewertung der Qualität einer Diät herangezogen werden (YAMADA et al. 1981). Aminosäuren werden dem Plasma in dem Maße entzogen, wie es den Bedarfsanforderungen des Organismus entspricht (NAVARRO et al. 1997). Dies hat zur Folge, daß eine erstlimitierende Futteraminosäure den relativ geringsten postprandialen Anstieg im Plasma verzeichnet.

Abgesehen von artspezifischen Unterschieden hängt der zeitliche Nachweis einer Futteraminosäure im Plasma im besonderen davon ab, ob diese in ihrer freien Form oder proteingebunden verabreicht wurde (YAMADA et al. 1982; ESPE et al. 1993; LANGAR et al. 1993; BERGE et al. 1994; ESPE & LIED 1994). Freie Aminosäuren können die Fähigkeit von Fischen, Proteinquellen für den Aufbau von Muskelgewebe zu nutzen, einerseits verringern (PLAKAS et al. 1980), aber auf der anderen Seite auch positiv beeinflussen (ESPE & LIED 1994). Darüber hinaus reduzieren sie die Synthese von Blutproteinen bei Regenbogenforellen (COWEY & WALTON 1988). YAMADA et al. (1982) beobachteten deutliche Differenzen im zeitlichen Verlauf des Anstiegs freier Plasma-Aminosäuren bei Nil-Tilapien (*Oreochromis niloticus*) als Reaktion auf die alternative Verabreichung einer Diät auf der Basis freier oder Casein-gebundener Aminosäuren. Kristalline essentielle Aminosäuren erreichten ihre maximale Konzentration bereits nach 2 Stunden und nahmen die Ausgangswerte nach 4 bis 8 Stunden ein, während die proteingebundenen essentiellen Aminosäuren nach 4 Stunden maximale Konzentrationen aufwiesen und längstens 24 Stunden über den Ausgangswerten nachweisbar waren. BERGE et al. (1994) konnten beim Kabeljau (*Gadus morhua*) zeigen, daß freies im Vergleich zu proteingebundenem (U-¹⁴C) Lysin früher im Plasma nachzuweisen war und zugleich ein höheres Aktivitätsmaximum aufwies. Gleichzeitig wurde (U-¹⁴C) Lysin aus einem intakten Protein mit 38,4% besser vom Muskelgewebe retiniert als freies (30,4%). Auch Nordamerikanische Welse (*Ictalurus punctatus*)

absorbieren freies Lysin schneller als proteingebundenes (ZARATE & LOVELL 1999). ESPE & LIED (1994) beobachteten bei Atlantischen Lachsen einen stärkeren Anstieg der freien Plasma-Aminosäuren mit zunehmender Aufnahme freier Futteraminosäuren bis zu einem Austausch der intakten Proteinquelle von 30%. Ein höherer Gehalt führte zu einem Absinken der Plasma-Konzentration und zu verringerter Proteinsynthese und lieferte für diese Art den Hinweis, daß die Auswirkungen einer Aminosäure-Supplementierung auf die Wachstumsleistung konzentrationsabhängig sind. Eine Möglichkeit, die Nutzung freier Aminosäuren für das Gewebewachstum zu verbessern besteht darin, ihre Absorptionsgeschwindigkeit z.B. durch "coating" zu reduzieren (COWEY & WALTON 1988).

2.1.3.2 Pools freier Aminosäuren im Körpergewebe

Die Pools freier Aminosäuren in den Geweben von Fischen unterliegen einer höheren Variabilität als die von Säugetieren und sind von der Temperatur sowie vom Ernährungszustand abhängig (KNAPP & WIESER 1981). Die freien Aminosäure-Pools in der Leber und der Muskulatur reagieren weniger ausgeprägt auf die Aminosäuren im verabreichten Futterprotein im Vergleich zum Plasma und Korrelationen mit dem Profil der Futteraminosäuren wurden bisher nicht (WALTON & WILSON 1986; LYNDON et al. 1993; CARTER et al. 1995; YAMAMOTO et al. 2000) oder lediglich unter einem besonderen Fütterungsregime (CARTER et al. 2000) beobachtet. Die relative Stabilität der freien Pools von Leber und Muskulatur deutet auf einen homeostatischen Kontrollmechanismus hin (HOULIHAN et al. 1995). Durch eine Reihe von futterbezogenen Eigenschaften kann jedoch auf einzelne Aminosäuren des freien Pools der weißen Muskulatur Einfluß genommen werden. Da eine Aminosäure im freien Gewebepool auf ein Niveau fallen kann, das die Proteinsynthese sowie die Proteinretention limitiert, sind Kenntnisse über das Zusammenwirken von freien Aminosäuren im Gewebe und dem Aminosäuremuster der Nahrung und dessen Beeinflussung durch das Futterregime notwendig, um die Retention von Futterproteinen zu maximieren (CARTER et al. 2000). Ausgehend von der Hypothese, daß die Konzentration einer einzelnen freien Aminosäure im Muskelgewebe solange auf geringem Niveau verbleibt, bis der Bedarf an dieser Aminosäure gedeckt ist, kann die Reaktion einer limitierenden essentiellen Aminosäure im Gewebe auf unterschiedliche Konzentrationen im Futter zur Aminosäure-Bedarfsbestimmung herangezogen werden (WILSON 1994).

ESPE et al. (1993) fanden heraus, daß sich die Konzentrationen der freien essentiellen Aminosäuren im Muskelgewebe von Atlantischen Lachsen nach der Verfütterung von hydrolysiertem Fischprotein im Vergleich zu intaktem Protein zwar erhöhten und innerhalb einer kürzeren Zeitspanne nachweisbar waren, aber im ganzen deutlich hinter den Konzentrationssteigerungen der Plasma-Aminosäuren zurückblieben. MENTE et al. (2003) stellten ebenfalls beim Atlantischen Lachs fest, daß sich die Verfütterung eines Aminosäure-defizitären Futterproteins (Maiskleber) verringernd auf die Lysin- und Threonin-Konzentration bzw. steigernd auf die Leucin- und Histidin-Konzentration des freien Pools der weißen Muskulatur auswirkte. Andere essentielle Aminosäuren waren nicht von Veränderungen betroffen. Eine vergleichbare Beobachtung konstatierten GÓMEZ-REQUENI et al. (2004) bei Goldbrassen (*Sparus aurata*). Tieren, denen in dieser Studie eine Mischung aus pflanzlichen Proteinquellen - darunter Mais- und Weizenkleber - verabreicht wurde, wiesen verringerte Lysin- und Arginin-Gehalte sowie erhöhte Histidin-Konzentrationen im freien Aminosäurepool der Muskulatur auf. Der Pool freier Aminosäuren im weißen Muskelgewebe Atlantischer Lachse, denen nach einer Hungerphase eine geringe Ration (0,28% der Lebendmasse) verabreicht wurde, reagierte signifikant im Verhältnis zu den aufgenommenen Aminosäuren (CARTER et al. 2000). Mittels dieses Fütterungsregimes konnte eine Erhöhung des Pools freier essentieller Aminosäuren in der Muskulatur um 128% gegenüber dem Ausgangswert erzielt werden. Dabei schien diejenige Aminosäure ein die Proteinsynthese bzw. die Proteinretention limitierendes Potential zu entfalten, die im Verhältnis zu den anderen essentiellen Aminosäuren die geringste Konzentrationserhöhung aufwies. Auch KAUSHIK et al. (1988) konnten in der Muskulatur von Regenbogenforellen eine niedrigere freie Arginin-Konzentration feststellen, wenn eine Diät verabreicht wurde, die in dieser Aminosäure defizitär war.

Einen Einfluß des Protein- und des Fettniveaus im Futter von Regenbogenforellen in Verbindung mit dessen Aminosäuremuster konstatierten YAMAMOTO et al. (2000). Ein geringer Proteingehalt senkte die Konzentrationen eines Großteils der freien essentiellen Aminosäuren im Muskelgewebe, während sich ein hoher Proteingehalt steigernd auswirkte. Ein Aminosäure-imbalantes Futterprotein induzierte die geringsten Konzentrationen freier essentieller Aminosäuren. Ein hoher Fettgehalt wirkte sich selektiv fördernd auf die freien aromatischen Aminosäuren in der Muskulatur aus. In keiner

Behandlung konnte eine Korrelation zwischen Futter- und muskulärem Aminosäuremuster nachgewiesen werden.

Bei Cypriniden konnte gezeigt werden, daß die Konzentrationen der Aminosäure Histidin im freien Aminosäure-Pool der Muskulatur und im Futterprotein miteinander korrelierten (KNAPP & WIESER 1981).

2.1.4 Regulation des Aminosäure- und Proteinpools

Die Regulation des Aminosäure- und Proteinpools ist gewebespezifisch und erfolgt durch Futterfaktoren, wie Protein- und Energieniveau bzw. Proteinqualität. Darüber hinaus werden die genannten Pools artspezifisch reguliert, wobei Alter und Lebendmasse einen Einfluß ausüben.

2.1.4.1 Gewebespezifische Differenzierung

Bei der Regulation der freien Aminosäure-Konzentrationen nimmt die Proteinsynthese eine Schlüsselrolle ein (CARTER et al. 2001). Im Zusammenwirken mit dem Abbau von Proteinen bestimmt die Proteinsynthese über den Gesamt-Proteinturnover eines Individuums. Die Proteinsynthese- bzw. -abbauraten der einzelnen Gewebetypen fallen aufgrund ihrer physiologischen Spezialisierung sehr unterschiedlich aus. Dabei kommt der Leber eine zentrale Rolle im Aminosäurestoffwechsel und in der Regulation des Transports von Aminosäuren zu nachgeschalteten Geweben zu (JÜRSS & BASTROP 1995), während die Muskulatur gekennzeichnet ist durch eine enge Beziehung zwischen Proteinsynthese und Proteinansatz (SMITH 1981; HOULIHAN et al. 1986). Die weiße Muskulatur kann als Hauptkompartiment der postnatalen Deposition von Proteinen bezeichnet werden (FAUCONNEAU & ARNAL 1985). Muskelgewebe zeichnet sich somit durch einen niedrigen Proteinturnover sowie eine effiziente Proteinretention aus, während metabolisches Gewebe, wie die Leber, einen hohen Turnover von Proteinen und damit verbunden eine niedrige Effizienz der Proteinretention aufweist (FAUCONNEAU 1985; FAUCONNEAU & ARNAL 1985; HOULIHAN et al. 1986, 1988; MCMILLAN & HOULIHAN 1989; PERAGON et al. 1994).

Auch der Gastrointestinaltrakt und die Kiemen zeichnen sich durch eine hohe Proteinsyntheserate sowie einen hohen Turnover von Proteinen aus (HOULIHAN et al. 1986,

1988, 1989; LYNDON & HOULIHAN 1998). Gegenüber den Kiemen und der Leber ist die Proteinsyntheserate der Muskulatur um einen Faktor von 10 bis 50 geringer. HOULIHAN et al. (1986) zeigten beispielsweise bei Regenbogenforellen, daß 76% des von der Muskulatur synthetisierten Proteins in Gewebewachstum überführt wurde, während für die Kiemen lediglich ein Wert von 3-5% angenommen wurde. FAUCONNEAU & ARNAL (1985) stellten ebenfalls an Regenbogenforellen (LM = 80g) fest, daß die drei Gewebetypen Muskulatur, Verdauungstrakt und Leber für rund 75% der Proteinsynthese (jeweils 33, 31 und 8% bei 10°C sowie 22, 39 und 14% bei 18°C) des Ganzkörpers verantwortlich waren. Wie ersichtlich, stieg in dieser Studie die Höhe des Beitrags der syntheseaktiven Gewebe (Leber und Verdauungstrakt) unter höheren Temperaturen deutlich an, während der Beitrag der Muskulatur rückläufig war. Trotz hoher Proteinsyntheseraten in Verdauungstrakt und Lebergewebe im Vergleich zur Muskulatur fiel die Effizienz der Proteindeposition (g festgelegtes Protein pro g synthetisiertes Protein) mit 3 bis 11% in diesen Organen gering aus, während der Wert des gesamten Körpers mit seinem hohen Muskulaturanteil 25% betrug. Bei einer verallgemeinernden Betrachtungsweise sollte berücksichtigt werden, daß die Verteilung der einzelnen Proteinsyntheseraten auf verschiedene Gewebetypen artabhängig ist (FAUCONNEAU 1985). Ein Teil der interspezifischen Variabilität der Proteinsynthese des Muskelgewebes kann nach Ansicht von FAUCONNEAU et al. (1995) dadurch begründet werden, daß die Muskulatur verschiedener Arten aus unterschiedlichen Anteilen von Fasertypen zusammengesetzt ist und verschiedene Proteinfraktionen in unterschiedlicher Weise zur Proteinsynthese der gesamten Muskulatur beitragen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß die weiße Muskulatur in der Regel 25-33% zur Proteinsynthese beiträgt und artspezifisch variierend zwischen 30 und 60% der Körpermasse umfaßt (LIED & ROSEN LUND 1984; FAUCONNEAU & ARNAL 1985; HOULIHAN et al. 1987; CARTER et al. 1993b; OWEN et al. 1999). Da die weiße Muskulatur also den größten Gewebeanteil im Fischkörper darstellt, können Veränderungen im Protein-Turnover dieses Gewebes einen deutlichen Effekt auf den gesamten Organismus haben (HOULIHAN et al. 1988). Im Vergleich zu heranwachsenden oder erwachsenen landlebenden Tieren ist die Proteinsyntheserate bei Fischen deutlich verlangsamt, was prinzipiell ein Ergebnis der Poikilothermie und dem damit verbundenen langsameren Verlauf biochemischer Prozesse bei Fischen darstellt (FAUCONNEAU 1984).

2.1.4.2 Nahrungsbezogene Einflußgrößen

Nach MILLWARD (1989) wird Futter nicht nur benötigt, um als Substrat für Erhaltung und Wachstum zu dienen, sondern auch um einen regulierenden Einfluß auf die Körperfunktionen auszuüben. Der Autor geht in seinem Konzept des "anabolic drive" von einem kontrollierenden Einfluß der absorbierten Aminosäuren auf die post-prandiale Stimulation der Proteinsynthese der weißen Fischmuskulatur im Zusammenwirken mit mindestens drei Hormonen - Insulin, T₃ und IGF-1 - aus. Basierend auf ihre Untersuchungen an Golf-Killifischen (*Fundulus grandis*) zeigten NEGATU & MEIER (1993), daß die Proteinsynthese einer täglichen, gewebespezifisch unterschiedlichen, Rhythmik unterworfen ist, was wiederum die tägliche Variation der genannten wachstumsfördernden Hormone widerspiegeln kann.

2.1.4.2.1 Futterrationen unterhalb des Erhaltungsbedarfs

Die Häufigkeit der Zuteilung sowie die Größe einer Mahlzeit ist entscheidend für die Regulierung der täglichen Proteinsynthese bzw. -degradation (HOULIHAN et al. 1995). Die Regulation der Deposition von Gewebeproteinen durch die Interaktion von Protein-auf- und -abbau ist von entscheidender Bedeutung für das Wachstum der Tiere (MCMILLAN & HOULIHAN 1989). Fische, denen der Zugang zu Nahrung entzogen wurde, reagieren auf diese Hungerssituation mit verminderten Proteinsyntheseraten sowie mit einem verminderten Protein-Turnover im Ganzkörper (HASCHEMEYER 1983; HOULIHAN et al. 1989). Auf Gewebeebene zeigt sich jedoch ein differenzierteres Bild. Während die Proteinsyntheserate der Muskulatur durch eine Fastensituation absinkt, verbleibt die der Leber bzw. der Kiemen auf einem gleichbleibenden Niveau (SMITH 1981). MCMILLAN & HOULIHAN (1992) zeigten dagegen, daß die Proteinsynthese in der Leber von Regenbogenforellen sowohl durch Futtergaben unterschiedlicher Höhe, wie auch durch eine Fastensituation stimuliert wurde. Der Beitrag, den die Leber zur Ganzkörper-Proteinsynthese unter den Bedingungen einer Erhaltungsstoffwechselsituation leistet, nimmt mit verringerten Proteinsyntheseraten in der Muskulatur zu (HOULIHAN et al. 1988). Unterhalb der Erhaltungsration stabilisiert sich die Proteinsyntheserate auf einem Niveau, das vermutlich unabhängig vom Lebendmasseverlust ist (HOULIHAN et al. 1989; 1994). Ein in einer Studie mit Kabeljaus (*Gadus morhua*) beobachteter überproportional verstärkter Rückgang der

Proteinsynthese in der Muskulatur bei einer sehr niedrigen Proteinversorgung wurde als Effekt eines Aminosäuredefizits angesehen, der eine polyribosomale Disaggregation auslöste (LIED & ROSENLUND 1984).

2.1.4.2.2 Futterrationen oberhalb des Erhaltungsbedarfs

Eine über dem Erhaltungsbedarf liegende Proteinaufnahme geht einher mit einer linearen Steigerung der Proteinsyntheserate (HOULIHAN et al. 1988; CARTER et al. 1993a, b, 1998). Darüber hinaus besteht eine Korrelation zwischen Proteinkonsumption und Proteinansatz (HOULIHAN et al. 1988, 1989; CARTER et al. 1993a; CARTER & BRANSDEN 2001). Damit stehen Proteinsynthese und Proteinansatz in einer engen Beziehung zueinander. ROSENLUND et al. (1984) ermittelten eine lineare Korrelation zwischen letztgenannten Parametern *in vitro* in der Muskulatur von Seelachsen (*Pollachius virens*). HASCHEMEYER & SMITH (1979) fanden heraus, daß die Proteinsynthese in der Muskulatur eng mit dem Wachstum des Ganzkörpers korreliert, da sich Muskelgewebe im Vergleich zu anderen Gewebetypen durch einen geringen Turnover der Proteine und damit durch eine hohe Proteindeposition auszeichnet. Bei wachsenden Regenbogenforellen betrug der Beitrag der Leber zum Wachstum der Tiere durch die Deposition von Proteinen beispielsweise weniger als 2%, während der Anteil der Muskulatur mit 65% angegeben wurde (SMITH 1981). Die nutritive Stimulation des Muskelwachstums durch eine Erhöhung der Proteinsyntheserate bedingt aber auch einen gesteigerten Bedarf an Proteinen im Zusammenhang mit einem erhöhten Turnover in der Muskulatur (MILLWARD 1989).

Einen entscheidenden Einfluß auf die Effizienz der Retention des synthetisierten Proteins - und damit auf das Gewebewachstum - übt jedoch die Proteinabbaurate aus (HOULIHAN et al. 1995; SVEIER et al. 2000; CARTER et al. 2001). Wenig ist über die Mechanismen der Proteindegradation bei Fischen bekannt (HOULIHAN et al. 1995). Die Aufnahme von Futterproteinen wirkte sich in verschiedenen Studien in unterschiedlicher Weise auf die Proteindegradation aus. Parallel zu einem linearen Anstieg der Proteinsyntheserate bei steigender Proteinzufuhr beobachteten HOULIHAN et al. (1988, 1989) bei Kabeljaus eine lineare Erhöhung der Proteinabbaurate. CARTER & BRANSDEN (2001) stellten bei Grünrücken-Flundern (*Rhombosolea tapirina*) ebenfalls eine enge positive Beziehung zwischen Proteinkonsumption sowie Proteinsyn-

these, Proteindegradation und Proteinzuwachs fest. Eine verbesserte Proteindeposition bei hoher Proteinaufnahme resultierte aus einem langsameren Anstieg der Degradationsrate im Vergleich zur Syntheserate. Über einen vergleichbaren Zusammenhang berichteten MEYER-BURGDORFF & ROSENOW (1995b) bei steigender Proteinzufuhr bei Spiegelkarpfen. Im Gegensatz zu den zuvor zitierten Arbeiten konnte in einer Studie mit Graskarpfen (*Ctenopharyngodon idella*) keine Korrelation von Proteinaufnahme und Proteindegradationsrate festgestellt werden (CARTER et al. 1993a).

2.1.4.2.3 Protein- und Energieniveau der Diät

MEYER-BURGDORFF & ROSENOW (1995b) untersuchten den Einfluß eines erhöhten wie auch eines suboptimalen Protein:Energie-Verhältnisses im Futter auf Spiegelkarpfen. Die Autoren berichteten in beiden Fällen von einem verstärkten Proteinabbau, der im ersten Fall (= relativer Proteinüberschuß) in einem vermehrten oxidativen Abbau sowie im letzteren Fall (= relativer Proteinmangel) in einem verstärkten Wiedereinbau von Aminosäuren mündete. Dieses Ergebnis unterstützte nach Ansicht der Autoren die Existenz eines Protein-Spareffekts bei Spiegelkarpfen.

Differenzierte Angaben zu Auswirkungen der Modulation des Protein: Energie-Verhältnisses können getroffen werden, wenn die Reaktion unterschiedlicher Organe berücksichtigt wird. Hierbei ist im besonderen die Muskulatur von Bedeutung, da die Akkumulation von Proteinen in diesem Gewebe eine direkte Reflektion des Wachstums darstellt. Eine Abwesenheit von Kohlenhydraten als Energiequelle im Futter von Regenbogenforellen, die zu einer Erhöhung des Protein:Energie-Verhältnisses führte, bewirkte eine deutliche Steigerung des muskulären Proteinturnovers sowie eine Herabsetzung der Wachstumsleistung ohne sich auf die Proteinsynthese oder den RNA-Gehalt auszuwirken (PERAGÓN et al. 1999). Dieser Befund wurde von den Autoren damit erklärt, daß in dieser Mangelsituation ein erhöhter Anteil von Proteinen der Gluconeogenese bzw. der Katabolisierung zugeführt wurde und stützt die von MEYER-BURGDORFF & ROSENOW (1995b) getroffenen Aussagen. PERAGÓN et al. (1994) beobachteten bei einem Herabsenken des Proteinniveaus in der Ration für Regenbogenforellen einen negativen Einfluß auf Proteinsynthese und RNA-Gehalt bei unveränderter Proteindegradation in der Muskulatur, was zu einer verringerten Wachstumsleistung führte. Signifikante Veränderungen der Proteinsynthese und -degradation in der Leber gegenüber einer Testdiät mit hohem Proteinniveau konnten nicht festgestellt werden,

was nach Ansicht der Autoren die zentrale Rolle dieses Organs für die Regulation des Stoffwechsels unterstrich.

2.1.4.2.4 Proteinqualität

Physiologisch betrachtet, wirken sich Schwankungen in der Quantität (absolut und relativ zu anderen Nährstoffen bzw. zur Energieaufnahme) sowie in der Qualität (Aminosäure-Zusammensetzung) des absorbierten Futterproteins auf die Proteinsyntheserate aus (CARTER et al. 2001). Demnach führt eine Aminosäure-Imbalanz im Futterprotein zu einer Modulation der Proteinsyntheserate (FAUCONNEAU 1985). Dies ist damit zu erklären, daß die Proteinsynthese nur dann fortgeführt werden kann, wenn die benötigten Aminosäuren in den richtigen Proportionen verfügbar sind. Unter dieser Annahme sollte diejenige essentielle Aminosäure die Proteinsyntheserate limitieren, die in der relativ, d.h. im Vergleich zum Bedarf, geringsten Konzentration am Ort der Proteinsynthese verfügbar ist (LYNDON et al. 1992). Der Proteinqualität muß demzufolge ein besonderes Interesse bei der Verwendung von pflanzlichen Proteinquellen in der Fischernahrung gelten, da diese in der Regel einen Mangel an einer oder mehreren Aminosäuren aufweisen (DE LA HIGUERA et al. 1999). Änderungen in der Proteinsynthese der Muskulatur von Fischen wirken sich direkt auf die Wachstumsleistung aus (LIED et al. 1983; ROSEN LUND et al. 1983) und können somit die Auswirkungen einer veränderten Proteinqualität auf das Wachstum erklären.

FAUCONNEAU et al. (1986) verglichen in einer frühen Arbeit zum Einfluß der Futterquelle auf Parameter des Proteinstoffwechsels die Reaktion von Störlarven (*Acipenser baeri*) auf natürliche und pelletierte Nahrung. Die Tiere reagierten äußerst sensibel, indem eine natürliche tierische Nahrung sowohl die Proteinsyntheserate des Ganzkörpers als auch die Aminosäure-Oxidation im Vergleich zu einer kommerziellen Diät herabsenkte, was zu einer effizienteren Proteindeposition führte. Diese Beobachtung wurde damit erklärt, daß durch die Verfütterung einer artifiziellen Diät hinsichtlich Proteinsynthese aktivere Gewebe (Verdauungstrakt, Leber) stimuliert wurden, die durch eine hohe Proteinsyntheserate sowie eine geringe Proteindeposition charakterisiert sind. Nähere Angaben zur Zusammensetzung der verwendeten Proteinquellen wurden nicht gegeben.

Einen Einfluß der Proteinqualität auf Parameter des Proteinstoffwechsels konnten CARTER et al. (1993a) bei Graskarpfen (*Ctenopharyngodon idella*) beobachten. Graskarpfen, die mit einer Methionin-defizitären und zugleich energiearmen Nahrung versorgt wurden, wiesen bei ähnlicher Proteinaufnahme im Vergleich zu einer Aminosäure-balancierten, energiereicheren Diät eine verringerte RNA-Aktivität, eine geringere Proteinsynthese und einen erhöhten Proteinabbau, verbunden mit geringerem Wachstum auf.

Wolfsbarsche (*Dicentrarchus labrax*) reagierten auf einen Aminosäuremangel in der Nahrung mit einer Erhöhung von Proteinsynthese und Proteindegradation des Ganzkörpers (LANGAR et al. 1993; LANGAR & GUILLAUME 1994). Die deutliche Verstärkung des Proteinturnovers führte zu einer weniger effizienten Deposition des synthetisierten Proteins und somit zu einer Verringerung der Wachstumsleistung gegenüber einer isonitrogenen Fischmehl-Referenzdiät. Wurde die Fischmehl-Komponente der Referenzdiät durch ein Fischmehl-Hydrolysat ersetzt, erhöhte sich die Proteinabbaurate, während die Proteinsyntheserate nur insignifikant anstieg. Diese Beobachtung wurde von den Autoren auf eine zeitlich differenzierte Absorption von proteingebundenen wie freien Aminosäuren aus dem Hydrolysat zurückgeführt.

Im Zusammenhang mit dem Einsatz pflanzlicher Proteinquellen konnten DE LA HIGUERA et al. (1998) zeigen, daß die Verfütterung einer Lysin-limitierten Diät sowohl die Proteinsynthese- als auch die Proteinturnoverrate von Spiegelkarpfen gewebespezifisch unterschiedlich beeinflusste. Das Muskelgewebe wies eine Minderung der Proteinsynthese bei gleicher (18°C Wassertemperatur) oder erhöhter (25°C Wassertemperatur) Proteindegradation auf, während beide Parameter im Lebergewebe bei 18°C mit einer Erhöhung sowie bei 25°C mit einer Verringerung reagierten. Eine Bedarfsanpassung mittels Aminosäure-Supplementierung wirkte sich in dieser Arbeit stimulierend auf Proteinsynthese und Proteindegradation in der Muskulatur aus, die Werte der Kontrollgruppe wurden jedoch nicht erreicht.

Europäische Aale (*Anguilla anguilla*), die im isonitrogenen Austausch gegen Fischmehl eine auf Sonnenblumenmehl basierende, Methionin-limitierte Diät erhielten, wiesen eine verringerte Wachstumsleistung auf (DE LA HIGUERA et al. 1999). Proteinsyntheserate und Proteinturnover in Leber und Muskulatur reagierten wiederum gegensätzlich

auf die Aufnahme einer pflanzlichen Proteinquelle, was das Vorhandensein unterschiedlicher Regulationsmechanismen des Proteinstoffwechsels in beiden Gewebetypen unterstrich. Während beide Parameter in der Leber stimuliert wurden, wobei der Effekt auf den Proteinabbau überproportional stärker ausfiel, wirkte sich eine verringerte Proteinqualität hemmend auf die Proteinsynthese und das Wachstum, aber nicht signifikant auf die Turnoverrate in der Muskulatur aus. Die mit dem Verzehr des pflanzlichen Proteins einhergegangene Minderung der Futterkonsumption konnte nach Ansicht der Autoren ebenfalls zu den beschriebenen Reaktionen beigetragen haben. Eine das Defizit ausgleichende Supplementation mit essentiellen Aminosäuren resultierte in einer Angleichung der Proteinsyntheserate, der Proteindeposition und der Wachstumsleistung an die Werte der Kontrolldiät.

Auch andere Arten wie Regenbogenforellen (GARZÒN 1995) und Goldmeerbrassen (*Sparus aurata*) (SIERRA 1995) reagierten auf einen Mangel an essentiellen Aminosäuren mit einer Verringerung der muskulären Proteinsyntheserate sowie der Proteindeposition. Der hepatische Proteinturnover änderte sich bei beiden Arten nicht signifikant.

Zu den Auswirkungen einer Aminosäure-Imbalanz der Proteinquelle auf Parameter des Proteinstoffwechsels kann zusammenfassend festgehalten werden, daß eine Reihe von Faktoren wie die Temperatur, die Höhe der Futtermenge, das Protein: Energie-Verhältnis sowie das betrachtete Gewebe in Zusammenhang mit der untersuchten Fischart die Ergebnisse beeinflussen, so daß z.T. widersprüchliche Aussagen existieren. Die Veränderung der Balance zwischen Proteinsynthese und Proteindegradation in der Muskulatur bedingte jedoch in allen Untersuchungen eine Verringerung der Wachstumsleistung, die entweder auf einer Depression anabolischer Prozesse oder auf einer Verringerung der Effizienz der Proteindeposition beruhte.

2.1.4.2.5 Reversibilität von Aminosäure-Imbalanzen

Die negativen Folgen des Verzehrs einer Aminosäure-defizitären Nahrung für die Wachstumsleistung sind nicht in jedem Fall reversibel durch Supplementierung mit den jeweils defizitären Aminosäuren. Bei Europäischen Aalen führte eine Verbesserung der Proteinqualität durch Angleichen des Aminosäuremusters an die Bedarfswerte mittels

Supplementation einiger essentieller Aminosäuren zu einer Steigerung der Proteinsyntheserate in der Muskulatur bzw. zu einer Herabsetzung dieses Parameters im Lebergewebe auf Werte ähnlich der Kontrollgruppe (DE LA HIGUERA et al. 1999).

Nahmen jedoch Spiegelkarpfen (GARZÓN 1995; DE LA HIGUERA et al. 1998) oder Goldmeerbrassen (*Sparus aurata*) (SIERRA 1995) eine in einer essentiellen Aminosäure (Lysin oder Methionin) defizitäre Nahrung auf, so zeigte sich nur dann ein stimulierender Effekt einer Aminosäure-Supplementierung auf die muskuläre Proteinsyntheserate und den Proteinansatz, wenn die betreffende Aminosäure mit Eialbumin umhüllt ("coating") war, nicht aber in ihrer freien Form. Als Erklärung diente die Beobachtung an Spiegelkarpfen, die freies Lysin im Vergleich zu proteingebundenem Lysin schneller absorbierten und dieses schneller am Ort der Proteinsynthese verfügbar war (GARZÓN 1995; DE LA HIGUERA et al. 1998). Das "Coating"-Verfahren hingegen bewirkte nach Angaben der Autoren durch eine Verzögerung der postprandialen Lysin-Verfügbarkeit eine Verbesserung der Nutzung von essentiellen Aminosäuren im Rahmen der Proteinsynthese.

2.1.4.3 Ernährungsunabhängige Einflußgrößen

Neben dem beschriebenen Einfluß des Fütterungsregimes (Rationshöhe, Protein- und Energieniveau sowie Proteinqualität) ist die Beziehung zwischen muskulärer Proteinsyntheserate und Proteinansatz abhängig von weiteren äußeren Faktoren, wie Temperatur und Schwimmaufwand sowie inneren Faktoren, zu denen das Alter und die Artzugehörigkeit gehört (FAUCONNEAU 1985). Darüber hinaus kann eine Veränderung der Balance zwischen Proteinsynthese und Proteinansatz durch eine Erhöhung der Proteinabbaurate als Adaptation gegenüber Umweltstressoren, wie z. B. einer Wasserverschmutzung, helfen, die Überlebensfähigkeit zu steigern (HOULIHAN et al. 1994). Eine Anhebung der Proteindegradation ist in diesem Fall verbunden mit höheren physiologischen Kosten für das Gewebewachstum.

Die Lebendmasse übt einen deutlichen Einfluß auf die Höhe der Proteinsynthese- und -degradationsrate aus. Regenbogenforellen mit einer Lebendmasse von 363g wiesen eine um ca. ein Viertel reduzierte Synthese- und Abbaurate im Vergleich zu Artgenossen mit einer Lebendmasse von 25g auf (HOULIHAN et al. 1986). Die Verringerung der Synthese- wie der Abbaurate mit zunehmendem Alter konnte für alle untersuchten

Gewebetypen nachgewiesen werden. In einer Studie mit Tilapien (*Oreochromis mossambicus*) verschiedener Lebendmasseabschnitte zeigten HOULIHAN et al. (1993), daß die Körpermasse der Tiere in einem Abschnitt von 20 mg bis 10g signifikant negativ mit den fraktionalen Raten von Proteinsynthese, Proteindegradation, Proteinzuwachs und ribosomaler Kapazität korrelierte. Die Tiere retinierten synthetisiertes Protein mit einer Effizienz von 33-39%, wobei Tiere in einem früheren Lebensabschnitt höhere Effizienzen aufwiesen als ältere.

Nach FAUCONNEAU et al. (1995) ist ein Teil der interspezifischen bzw. Lebendmasse-spezifischen Variabilität der Beziehung zwischen Proteinsynthese und Proteinansatz auf unterschiedliche Anteile von Muskelfasertypen verbunden mit unterschiedlichen Beiträgen struktureller wie nicht-struktureller Proteine zur muskulären Gesamt-Proteinsynthese zurückzuführen.

2.2 Studien zum Aminosäurebedarf bei Fischen

Der zweite Teil des Literaturüberblicks gibt einen Einblick in die Methoden zur Bestimmung des qualitativen und quantitativen Bedarfs an essentiellen Aminosäuren von Fischen.

2.2.1 Qualitativer Aminosäurebedarf

In einer ersten Arbeit zum qualitativen Aminosäurebedarf von Fischen mit Pazifischen Lachsen (*Oncorhynchus tshawytscha*) lieferten HALVER et al. (1957) den Hinweis dafür, daß auch Fische alle 10 essentiellen Aminosäuren zum Wachstum benötigen. Die Untersuchung basierte auf einer von HALVER (1957) beschriebenen Testdiät, die aus kristallinen Aminosäuren bestand. Hintergrund dieses methodischen Vorgehens ist, daß eine Standarddiät erstellt wird, deren Aminosäuremuster einem hochwertigen Protein (Hühnerei, Fischmehl) entspricht. Durch das Weglassen jeweils einer Aminosäure und einer anschließenden Wirkungsüberprüfung in einem Wachstumsversuch kann auf die Fähigkeit zur Synthese jeder untersuchten Aminosäure geschlossen werden. Alternativ kann der qualitative Aminosäurebedarf indirekt bestimmt werden, indem Fischen U-¹⁴C-Glucose injiziert wird und nach Ablauf einer bestimmten Zeit die Körperaminosäuren hinsichtlich einer radioaktiven Markierung untersucht werden (COWEY et al. 1970). Die Markierung ist ein Indikator dafür, daß die betreffende Aminosäure vom Organismus synthetisiert werden kann.

In allen bislang zum qualitativen Aminosäurebedarf von Fischen durchgeführten Studien konnte eine bestehende Essentialität der Aminosäuren Arginin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan sowie Valin verifiziert werden. Hierzu zählen die Arbeiten von HALVER & SHANKS (1960) für den pazifischen Lachs *Oncorhynchus nerka*, SHANKS et al. (1962) für Regenbogenforellen, DUPREE & HALVER (1970) für den Nordamerikanischen Wels (*Ictalurus punctatus*), ARAI et al. (1972) für den Europäischen (*Anguilla anguilla*) und den Japanischen Aal (*Anguilla japonica*), NOSE et al. (1974) für den Spiegelkarpfen (*Cyprinus carpio*) sowie MAZID et al. (1978) für *Tilapia zillii*.

2.2.2 Quantitativer Aminosäurebedarf

Zur Bestimmung des quantitativen Bedarfs an den in Kapitel 2.2.1 vorgestellten essentiellen Aminosäuren liegen eine Reihe von Konzepten vor, die in diesem Abschnitt erläutert werden.

2.2.2.1 Wahlversuche

Wahlversuche stellen eine Möglichkeit zur Abschätzung des Bedarfs an einer Aminosäure dar, indem den Fischen die Wahl zwischen Futtern mit verschiedenen Konzentrationen der untersuchten Aminosäure überlassen wird. Daß Fische auf ein ihrem Bedarf entsprechendes Aminosäuremuster reagieren, zeigten YAMAMOTO et al. (2000). Die Autoren boten Regenbogenforellen in einem Wahlversuch simultan Casein mit einem ausbalanzierten Aminosäureprofil, eine auf Gelatine basierende Diät mit einem unbalanzierten Aminosäuremuster sowie eine proteinfreie Diät an. Die Tiere zeigten eine deutliche Präferenz für die ausbalancierte Caseindiät und zwar unabhängig von den getesteten Rohproteinstufen (15 - 40%). HIDALGO et al. (1988) gaben Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*) in einem Wahlversuch die Möglichkeit, unter 5 Diäten, die einen unterschiedlichen Methioningehalt aufwiesen, ihr Futter zu wählen. Nach kurzer Zeit wurde diejenige Futterquelle bevorzugt, die einen Methioningehalt aufwies, der nahe am Bedarfswert eines früheren Dosis-Wirkungs-Experimentes (THEBAULT et al. 1985) lag.

Der physiologische Hintergrund dieses Typs von Experimenten ist, daß hoch wasserlösliche Moleküle mit einem geringen Molekulargewicht bereits in geringen Konzentrationen höchst effektiv die olfaktorischen Rezeptorzellen von Fischen stimulieren, so daß ihnen eine besondere Bedeutung bei der Chemorezeption von Fischen zukommt (ZEISKE et al. 1992). Zu diesen als chemische Stimuli wirkenden niedermolekularen Substanzen zählen Aminosäuren, Steroide, Prostaglandine, Nukleotide und Zucker (HARA 1992). Der Geschmackssinn reagiert ebenfalls auf chemische Reize, wobei wiederum niedermolekularen Komponenten wie einigen Aminosäuren, Peptiden sowie Betain eine besondere Rolle als Verzehrs-Stimulantien zukommt (KANWAL & FINGER 1992; TIDWELL et al. 1998). Geschmackssensoren enthalten häufig auch auf mechanische Reize reagierende Sensoren, die der Bestimmung der Futtertextur dienen.

Geschmack und Sensorik entscheiden somit über die Wahl des Fisches, ein dargebotenes Futterpellet aufzunehmen oder zu verweigern (MARUI & CAPRIO 1992). Die Sensitivität des Geruchs- sowie des Geschmacksinnes gegenüber chemischen Reizen ist artspezifisch. Bei einigen Fischarten sind sowohl der Geschmacks- als auch der Geruchssinn ähnlich sensitiv gegenüber bestimmten Aminosäuren (KANWAL & FINGER 1992).

Nach JONES (1992) kann das Futteraufnahmeverhalten von Fischen in 3 sequentiell ablaufende Phasen unterteilt werden: (a) eine Alarmierungsphase, in der der Fisch zunächst ungerichtete Bewegungen ausführt, (b) eine appetitive Phase, in der potentielle Nahrung lokalisiert und identifiziert wird und (c) eine Konsumphase, in der Futter intraoral geschmacklich geprüft und wahlweise ingestiert bzw. abgelehnt wird. Chemische Stimuli, wie Aminosäuren spielen in allen 3 Phasen eine wichtige Rolle.

Das genaue Spektrum an Aminosäuren, das einen maximalen Reiz auf den Geschmackssinn ausübt, ist vermutlich durch die ökologische Nische, die eine Art einnimmt, bedingt. Nach CARR et al. (1996) reflektieren artspezifische Unterschiede in der stimulatorischen Effektivität von Aminosäuren unterschiedliche Aminosäuremuster der natürlichen Beuteorganismen. Nil-Tilapien reagierten nach MARUI & CAPRIO (1992) auf ein breites Spektrum von neutralen, basischen sowie sauren Aminosäuren.

2.2.2.2 Aminosäure-Zusammensetzung von Körpergeweben

Eine Reihe von Konzepten zur Abschätzung des Aminosäurebedarfs beruht auf dem Aminosäuremuster verschiedener Körpergewebe.

2.2.2.2.1 Aminosäure-Zusammensetzung von Ganzkörper und Eiern

RUMSEY & KETOLA (1975) berichteten, daß Regenbogenforellen die höchste Wachstumsleistung erbrachten, wenn das auf Sojaschrot basierende Futter mit essentiellen kristallinen Aminosäuren nach dem Aminosäuremuster ihrer Eier ergänzt wurde. Die Supplementierung auf der Basis der Eier war einer Ergänzung überlegen, die sich an der Aminosäure-Zusammensetzung des Ganzkörpers orientierte. Larven des Atlantischen Lachses wuchsen wiederum besser, wenn das auf Casein basierende Futter mit Aminosäuren ergänzt wurde, so daß das Muster des Proteingemischs das von isoliertem

Fischmehl simulierte (RUMSEY & KETOLA 1975). KETOLA (1982) traf anhand der Ergebnisse einer Versuchsreihe die Aussage, daß Atlantische Lachse und Regenbogenforellen die günstigsten Wachstumsleistungen erbrachten, wenn ihre Diäten dem Aminosäuregehalt von Lachs- bzw. Forelleneiern entsprachen.

WILSON & POE (1985) verglichen mittels Regressionanalyse die Korrelation des Aminosäurebedarfs von Nordamerikanischen Welsen (*Ictalurus punctatus*) mit dem Gehalt an den entsprechenden Aminosäuren im Ganzkörper sowie in den Eiern dieser Art. Der Korrelationskoeffizient der Beziehung zum Aminosäuregehalt des Ganzkörpers war deutlich höher (0,96 gegenüber 0,68) als der zum Aminosäuregehalt der Eier. Ausgehend von einem hohen Übereinstimmungsgrad des Aminosäuremusters von Ganzkörper und Bedarf postulierten die Autoren, diese Beziehung als Grundlage für eine vorläufige Rationsformulierung in Abwesenheit geeigneter quantitativer Bedarfs- werte heranzuziehen. ROLLIN et al. (1994) konnten anhand ihrer Untersuchungen an Atlantischen Lachsen bestätigen, daß dem arttypischen Aminosäureprofil des Gewebes eine wichtige Rolle bei der Bedarfsabschätzung zukommt. Die Tiere wiesen eine verbesserte Wachstumsleistung auf, wenn das auf Casein basierende Futter nach dem Aminosäureprofil des Ganzkörpers konzipiert wurde und nicht nach dem von Fischmehl. Da die Simulation der verschiedenen Profile in beiden Fällen eine unterschiedlich hohe Zugabe an kristallinen Aminosäuren erforderte, wurde dieser Faktor von den Autoren einschränkend als weitere Ursache eines unterschiedlichen Wachstums der Gruppen in Betracht gezogen.

Eine Reihe von Untersuchungen belegen, daß die Aminosäurezusammensetzung des Ganzkörpers unterschiedlicher Altersklassen innerhalb einer Art stabil ist (WILSON 1985). WILSON & POE (1985) untersuchten Nordamerikanische Welse (*Ictalurus punctatus*) in einem Größenspektrum von 30 bis 863 g und konnten keine signifikanten Unterschiede in der Ganzkörper-Aminosäurezusammensetzung feststellen. Schwarzbarsche (*Micropterus salmoides*) in einem Größenspektrum von 0,53 bis 844 g wiesen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede im Aminosäureprofil des Muskel- oder des Ganzkörperproteins auf (PORTZ & CYRINO 2003). Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen SCHWARZ & KIRCHGESSNER (1988) bei Spiegelkarpfen, KAUSHIK (1998) bei Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*), Meerbrassen (*Sparus aurata*) und Steinbutts (*Psetta maxima*) sowie NGAMSNAE et al. (1999) bei Silberbarschen (*Bidyanus bidyanus*). Für die Aminosäurebedarfsverhältnisse verschiedener Lebendmasse-

abschnitte einer Art folgt demnach, daß - sofern diese auf den altersabhängig variierenden notwendigen Rohproteingehalt bezogen werden - keine wesentlichen Unterschiede zu erwarten sind (WILSON 1985).

Zwischenartliche Vergleiche der Aminosäurezusammensetzung von Ganzkörpern verschiedener Fischarten deuten darauf hin, daß auch hier in vielen Fällen keine signifikanten Unterschiede zwischen einer Reihe von Arten bestehen (GATLIN 1987; MAMBRINI & KAUSHIK 1995; KAUSHIK 1998; PORTZ & CYRINO 2003), so daß das Aminosäurebedarfsmuster der jeweils untersuchten Arten-Kombinationen nahezu identisch ist. Über den absoluten Bedarf an den einzelnen Aminosäuren kann jedoch ohne quantitative Untersuchungen keine Aussage getroffen werden. Unterschiede in den Bedarfswerten verschiedener Fische sind durch Variationen in den relativen Anteilen struktureller Proteine begründet sowie den artspezifischen physiologischen Bedürfnissen an einzelnen essentiellen Aminosäuren (WILSON & POE 1985).

2.2.2.2.2 Ansatz essentieller Aminosäuren

OGINO (1980) versuchte den Aminosäure-Bedarf von Spiegelkarpfen und Regenbogenforellen mittels Ansatz der essentiellen Aminosäuren im Körper der Tiere abzuschätzen. Im Mittelpunkt dieses Verfahrens steht die Berechnung des Anstiegs des Gehaltes an essentiellen Aminosäuren im Ganzkörper der Tiere, die unter optimalen Bedingungen und Gaben eines hochwertigen Futterproteins wachsen. Die Methode basiert auf der Annahme, daß alle essentiellen Aminosäuren eines hoch verdaulichen Proteins in die Synthese körpereigenen Proteins einfließen. Das Ergebnis der Studie reflektierte einen ähnlichen Aminosäurebedarf der beiden untersuchten Fischarten. Der Vergleich mit den Bedarfswerten von Spiegelkarpfen aus einem Dosis-Wirkungsversuch wies eine deutliche Unterschätzung der Angaben von 8 essentiellen Aminosäuren aus. Als Ursache hierfür äußerten WILSON & POE (1985) die Vermutung, daß eine signifikante Menge an bestimmten essentiellen Aminosäuren zur Deckung des Erhaltungsbedarfs und anderer physiologischer Leistungen herangezogen wurde, die mittels dieser Methode nicht erfaßt werden können. WILSON (2002) gab weiterhin zu bedenken, daß bei dieser Methode fraglich bliebe, ob vom Ansatz der Aminosäuren im Gewebe auf Bedarfswerte geschlossen werden kann, die maximales Wachstum gewährleisten, da üblicherweise lediglich 30-40% des Futterproteins von wachsenden Fischen in körpereige-

nes Eiweiß überführt wird. Die Bestimmung des Aminosäureansatzes im Ganzkörpergewebe ist aus diesem Sachverhalt heraus nur sehr begrenzt zur Abschätzung des Aminosäurebedarfs einer Art einsetzbar (WILSON 1985).

2.2.2.2.3 Idealprotein-Konzept

Das dem "A/E"-Konzept (essentielles Aminosäure-Verhältnis) ähnliche "Ideal-Protein"-Konzept basiert ebenfalls auf der Hypothese, daß ein direkter Bezug zwischen dem Aminosäurebedarf einer Art und dem Aminosäuremuster im Ganzkörper besteht. Es wird vorwiegend dann angewendet, wenn der Bedarf der in Futtermitteln häufig erstlimitierenden Aminosäure Lysin bekannt ist. Der Bedarf an den übrigen Aminosäuren wird in diesem Fall relativ zum Lysin angegeben, gemäß dem im Ganzkörper bestimmten Aminosäuremuster. Daraus folgt, daß das Ideal-Protein das optimale Verhältnis der essentiellen Aminosäuren im Futter zueinander angibt. Die Angabe des Ideal-Proteins ist allgemeiner anwendbar als einzelne Konzentrationsangaben von Aminosäuren, da die Verhältnisse weniger stark von Faktoren, wie Körpergröße, Geschlecht oder Futteraufnahme abhängig sind (RODEHUTSCORD & PACK 1999). FAGBENRO (2000) bestimmte mittels dieser Methode den Bedarf an essentiellen Aminosäuren für die Nil-Tilapie. Folgende Werte wurden bestimmt (jeweils in g/100g Protein):

- | | | |
|------------------|-------------------------------|-------------------|
| - Arginin: 4,1 | - Leucin: 4,3 | - Threonin: 3,3 |
| - Histidin: 1,5 | - Methionin + Cystin: 3,4 | - Tryptophan: 0,6 |
| - Isoleucin: 2,6 | - Phenylalanin + Tyrosin: 4,8 | - Valin: 3,0 |

Im Vergleich zu den Bedarfsempfehlungen des NRC (1993) konnte der Autor im wesentlichen übereinstimmende Werte mit Ausnahme der Angaben zum Leucinbedarf bzw. zum Bedarf an den aromatischen Aminosäuren konstatieren.

2.2.2.2.4 Essentielles Aminosäure-Verhältnis ("A/E"-Verhältnis)

ARAI (1981) beschrieb die Möglichkeit, eine Abschätzung des Aminosäurebedarfs einer Fischart mittels der "A/E"-Verhältnisse (Verhältnisse der essentiellen Aminosäuren) [(Gehalt an einer essentiellen Aminosäure dividiert durch den Gehalt der Summe der essentiellen Aminosäuren inklusive Cystin und Tyrosin) multipliziert mit 1000] des Körpergewebes vorzunehmen. Grundlage des Konzeptes waren Versuche, bei denen

Larven des Pazifischen Lachses *Oncorhynchus kisutch* mit auf Casein basierenden Testdiäten versorgt wurden, wobei ein Futter, das die "A/E"-Verhältnisse des Ganzkörpers dieser Art simulierte, eine ähnliche Wachstumsleistung sowie einen günstigeren Futteraufwand aufgrund einer Verbesserung der Proteinqualität im Vergleich zu einer Fischmehl-Kontrolldiät verzeichnete. Der Autor stellte heraus, daß diese Methode geeignet sei, in Abwesenheit quantitativer Bedarfsangaben die Aminosäurebalance einer Diät zu beurteilen und anzupassen.

Weiterführende Untersuchungen zu diesem Konzept stammen von OGATA et al. (1983), die in ihren Experimenten zwei weitere Pazifische Lachsarten (*O. masou* und *O. rhodurus*) verwendeten. Testdiäten auf Caseinbasis, die mit Aminosäuren nach dem artspezifischen "A/E"-Verhältnis des Ganzkörpers ergänzt wurden, riefen bei beiden Arten ein besseres Wachstum, einen günstigeren Futteraufwand sowie ein verbessertes Proteinwirkungsverhältnis (PER), als jeweils unsupplementiertes Casein, nach dem "A/E"-Verhältnis der Eier supplementiertes Casein oder eine Fischmehl-Kontrolldiät.

Im wesentlichen ergeben sich zwei Kritikpunkte aus diesem Verfahren (WILSON & POE 1985). Zum einen wird lediglich eine Aussage zur relativen Beziehung der Aminosäuren zueinander erfaßt - also zur Balance der Aminosäuren - und nicht über die absolute Höhe des Bedarfs. Zum anderen wird, wie bei anderen Methoden ebenfalls nicht, die spezifische Metabolisierung oder der Erhaltungsbedarf einer Aminosäure berücksichtigt, sondern eine vollständige Integration der Futteraminosäuren in körpereigenes Protein vorausgesetzt.

Um die Aussagefähigkeit der mit dem "A/E"-Konzept erzielten Werte zu erhöhen und quantitativ nutzen zu können, werden die Ergebnisse mit einem aus einem Wachstumsversuch abgeleiteten Bedarfswert kombiniert. Dazu wird das "A/E"-Verhältnis jeder essentiellen Aminosäure zum "A/E"-Verhältnis der bekannten Aminosäure in Beziehung gesetzt und mit dem ermittelten Bedarfswert multipliziert.

Nach MOON & GATLIN (1991) konnte das auf dem Lysinbedarfswert dieser Art berechnete "A/E"-Verhältnis des Muskelproteins von *Sciaenops ocellatus* dazu dienen, den zuvor in einem Dosis-Wirkungsversuch bestimmten Methioninbedarf dieser Art zu bestätigen. Die Autoren folgerten, daß dieses Verfahren zur Abschätzung des Aminosäurebedarfs einer Fischart in Abwesenheit geeigneter Werte aus Wachstumsversuchen herangezogen werden kann.

Auch in aktuellen Arbeiten zur Entwicklung geeigneter Proteinmischungen für potentielle Aquakulturkandidaten wird auf das Konzept des Verhältnisses der essentiellen Aminosäuren im Ganzkörper in Kombination mit der Kenntnis des quantitativen Bedarfs an einer Aminosäure zurückgegriffen. FORSTER & OGATA (1998) nutzten beispielsweise diese Methode, um auf der Basis des Lysinbedarfs den Bedarf an den anderen essentiellen Aminosäuren der Japanischen Flunder (*Paralichthys olivaceus*) und des Roten Meerbrassen (*Pagrus major*) abzuschätzen. Das Konzept erwies sich darüber hinaus als erfolgreich, auf der Basis des Argininbedarfs den Phenylalaninbedarf von Silberbarschen (*Bidyanus bidyanus*) abzuschätzen und in einem weiteren Dosis-Wirkungsversuch zu bestätigen (NGAMSNAE et al. 1999). Ein Einfluß der Lebendmasse auf die Abschätzung des Phenylalaninbedarfs wurde nicht festgestellt, obwohl beide Wachstumsversuche mit unterschiedlich schweren (0,35g bzw. 10,0g) Tieren durchgeführt wurden. In diesem Zusammenhang berichteten NG & HUNG (1994), daß verschiedene Wachstumsabschnitte des Weißen Störs (*Acipenser transmontanus*) im Bereich von 19,5 bis 535,4g keine signifikant unterschiedlichen "A/E"-Verhältnisse auf der Grundlage des Ganzkörpergewebes aufwiesen.

2.2.2.2.5 Zusammenfassende Beurteilung der Methoden zur Bedarfsabschätzung

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß die Angabe von Aminosäure-Bedarfswerten auf der Grundlage der Aminosäure-Zusammensetzung des Ganzkörpers keine Berücksichtigung der Angaben zur Aminosäure-Wirksamkeit der verwendeten Proteinquelle zuläßt. Darüber hinaus wird weder die physiologische Nutzung oder der Erhaltungsbedarf an einer Aminosäure berücksichtigt, noch eine Differenzierung nach dem Lebendmassebereich der Fische ermöglicht. MAMBRINI & KAUSHIK (1995) treffen jedoch auf der Basis einer Vielzahl von belegten Übereinstimmungen mit den Ergebnissen aus quantitativen Untersuchungen die Aussage, daß das Aminosäureprofil des Ganzkörpers das ideale Muster für ein Referenzprotein darstellt, um damit als Grundlage für die Formulierung von Diäten in Abwesenheit zuverlässigerer Daten zu dienen. D.h., daß eine erste relative Bewertung des Aminosäurebedarfs einer Art auf der Basis des Aminosäuremusters des Ganzkörpergewebes getroffen werden kann (DE SILVA & ANDERSON 1995). Darüber hinaus erlauben diese Methoden, potentielle Proteinquellen hinsichtlich ihrer Eignung als Futterquelle einer bestimmten Fischart zu selektieren (NG & HUNG 1994).

Die Grenzen einer Bedarfsabschätzung mittels Aminosäureanalyse des Körpergewebes konnten AKIYAMA et al. (1997) anhand des "A/E"-Konzepts aufzeigen. Wurden die Verhältnisse der essentiellen Aminosäuren anhand der Aminosäureprofile des Ganzkörpergewebes verschiedener Arten bestimmt, reflektierten die abgeleiteten Werte zum Aminosäurebedarf Ähnlichkeiten zwischen phylogenetisch weit entfernten Arten. Im Gegensatz dazu unterstützte ein Vergleich der "A/E"-Verhältnisse aus von Wachstumsstudien abgeleiteten Aminosäurebedarfswerten verschiedener Arten die tatsächlichen Verwandtschaftsverhältnisse.

2.2.2.3 Dosis-Wirkungsversuche

Ausgehend von der klassischen Methodik erfolgt in diesem Abschnitt die Beschreibung der Weiterentwicklung von Dosis-Wirkungsversuchen hinsichtlich der Konzeption von Testdiäten sowie von mathematischen Auswertungsverfahren. Im Anschluß daran wird ein exponentielles N-Verwertungsmodell vorgestellt, auf dem die vorliegende Arbeit aufbaut.

2.2.2.3.1 Klassische Methodik

Erste Studien zum quantitativen Aminosäurebedarf von Fischen wurden durch HALVER et al. (1958) für Threonin und Lysin, HALVER et al. (1959) für Methionin und Cystin, DELONG et al. (1962) für Threonin sowie CHANCE et al. (1964) für Isoleucin, Leucin, Valin und Phenylalanin am Pazifischen Chinook-Lachs (*Oncorhynchus tshawytscha*) durchgeführt. Als Referenzdiät kam entweder eine Mischung aus Casein und Gelatine oder Maiskleberprotein zum Einsatz, die jeweils mit kristallinen L-Aminosäuren dem Aminosäureprofil des Hühnereiproteins entsprechend supplementiert wurden. Der Proteingehalt der Mischungen orientierte sich an dem zuvor experimentell bestimmten Proteinbedarf dieser Art (DELONG et al. 1958). Den Testdiäten, die der Bestimmung des quantitativen Bedarfs einer Aminosäure dienten, wurde die zu untersuchende Aminosäure in graduell ansteigender Konzentration in kristalliner Form im Austausch gegen eine nicht-essentielle Aminosäure zugeführt. Alle eingesetzten Testdiäten waren isonitrogen und isokalorisch. Die Bestimmung des Aminosäurebedarfs erfolgte mittels graphischer Auswertung der Daten zum Wachstum in Abhängigkeit von der Konzentration der betreffenden Aminosäure (Dosis-Wirkungsversuch). Der

Aminosäurebedarf einer Art ist bei diesem Vorgehen definiert als die minimale Konzentration einer essentiellen Aminosäure, die eine maximale Wachstumsleistung gewährleistet (NRC 1993). Der Schnittpunkt zweier manuell geführter Regressionsgraden, die jeweils den Anstieg des Wachstums sowie dessen Plateauphase reflektierten, diente in den ersten Arbeiten der Abschätzung des Aminosäurebedarfs.

Alternativ zum Wachstum kann der Parameter Proteinzuwachs in Abhängigkeit von der eingesetzten Dosis zur Bedarfsableitung herangezogen werden (DABROWSKI 1981; TIBALDI & LANARI 1991; KIM et al. 1992a, b; SCHWARZ et al. 1998). In einem Fall ist eine geringe Abweichung im Vergleich beider Parameter bei wachsenden Regenbogenforellen im Zusammenhang mit der Ableitung des Bedarfs an aromatischen Aminosäuren dokumentiert (KIM 1993). Ein in einigen Arbeiten zur Unterstützung der Bedarfsbestimmung herangezogener Parameter ist das Proteinwirkungsverhältnis (PER) (BERGE et al. 1997; RUCHIMAT et al. 1997a, b; BERGE et al. 1998; AHMED et al. 2003).

Untersuchungen an weiteren Fischarten, wie dem Spiegelkarpfen (NOSE et al. 1974) und dem Nordamerikanischen Wels (*Ictalurus punctatus*) (WILSON et al. 1977) zeigten die Notwendigkeit der Anhebung des pH-Wertes bei einer auf Casein, Gelatine und freien Aminosäuren basierenden Testdiät, um höhere Wachstumsraten zu erzielen sowie eine effizientere Nutzung des Futters zu gewährleisten. Der quantitative Aminosäurebedarf von Nil-Tilapien wurde von SANTIAGO & LOVELL (1988) mittels der klassischen Methodik ermittelt und stellt die derzeitige Aminosäure-Versorgungsempfehlung für diese Art dar (NRC 1993). Als Grundlage diente eine mit kristallinen Aminosäuren supplementierte Casein-Gelatine-Mischung mit einem Rohproteingehalt von 28%. Anhand des Lebendmassezuwachses von Tieren in einem Lebendmassebereich von ca. 0,05 bis 2,5 g wurde der Bedarf an den essentiellen Aminosäuren bestimmt (in % FS): Arginin 1,18; Histidin 0,48; Isoleucin 0,87; Leucin 0,95; Lysin 1,43; Methionin 0,75 (Cystin 0,15); Phenylalanin 1,05 (Tyrosin 0,5); Threonin 1,05; Tryptophan 0,28; Valin 0,78.

2.2.2.3.2 Weiterentwicklung der Diätkonzeption

In einer Reihe von Studien zum Aminosäurebedarf verschiedener Fischarten kamen weitere natürliche Proteinquellen zum Einsatz, die als Einzelkomponente oder in einer Mischung eine stark ausgeprägte Limitation in der untersuchten Aminosäure aufweisen. Auf natürliche Proteinkomponenten wurde zurückgegriffen, da sich in einer Reihe von Studien gezeigt hatte, daß sich eine zu geringen Menge intakten Proteins zugunsten eines hohen Anteils an kristallinen Aminosäuren wachstumsmindernd auswirken kann (MAZID et al. 1978; ROBINSON et al. 1980b; THEBAULT et al. 1985; COWEY et al. 1992; ESPE & LIED 1994). Nachfolgend werden Beispiele von häufiger verwendeten Proteinquellen benannt.

DABROWSKI (1981) verwendete das in den Aminosäuren Lysin und Tryptophan stark defizitäre Zein mit einer Ergänzung kristalliner Aminosäuren zur Bestimmung des Tryptophanbedarfs von Spiegelkarpfen. Eine Testdiät auf Zeinbasis, supplementiert mit kristallinen Aminosäuren, wurde ebenfalls von BERGE et al. (1997, 1998) beim Atlantischen Lachs zur Bestimmung des Arginin- bzw. Lysinbedarfs gewählt. KAUSHIK et al. (1988) und BORLONGAN & BENITEZ (1990) nutzten jeweils eine Mischung aus Zein und weißem Fischmehl supplementiert mit kristallinen Aminosäuren.

KETOLA (1983) verwendete Aminosäure-supplementierten Maiskleber zur Bestimmung des Bedarfs an Lysin bzw. Arginin von Salmoniden.

KEEMBIYEHETTY & GATLIN (1992) wählten ein Fischmuskelprotein, supplementiert mit kristallinen Aminosäuren, zur Lysinbedarfsbestimmung von Hybrid-Streifenbarschen (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*).

SCHWARZ et al. (1998) verwendeten eine Mischung aus Sojaprotein, Gelatine und Erbsenmehl zur Methioninbedarfsbestimmung bei Spiegelkarpfen. THEBAULT et al. (1985) untersuchten den Methioninbedarf von Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*) unter Verwendung einer basalen Proteinmischung aus Sojaschrot, Hefe und Fischmehl, die alternativ entweder mit kristallinem Methionin supplementiert wurde oder im Austausch gegen Fischmehl eine graduelle Steigerung des Methioningehaltes erfuhr. Es zeigte sich, daß lediglich das auf der Fütterung proteingebundenen Methionins basierende Wachstum zur Ableitung des Methioninbedarfs herangezogen werden konnte, was die Autoren mit einem unterschiedlichen kinetischen Verhalten freien sowie proteingebundenen Methionins erklärten. Beobachtungen an Spiegelkarpfen belegen in

diesem Zusammenhang, daß eine Erhöhung der Anzahl der täglichen Fütterungen (YAMADA et al. 1981) oder ein "coating" freien Methionins (MURAI et al. 1982) die Nutzung kristalliner Aminosäuren in Verbindung mit proteingebundenen verbessern kann.

2.2.2.3.3 Mathematische Auswertung

Das generelle Design der frühen Experimente zum Aminosäurebedarf blieb seither relativ unverändert (WILSON 1994). Die mathematische Auswertung der Dosis-Wirkungs-Beziehung entwickelte sich jedoch im Zuge einer breiteren Verfügbarkeit von Computern, statistischen Methoden und verbesserter mathematischer Modelle weiter (SHEARER 2000). Die Bestimmung des Aminosäurebedarfs erfolgte in frühen Arbeiten mittels graphischer Lösung der linearen Regression der beiden Teilabschnitte der Dosis-Wirkungskurve und anschließender Schätzung ihres Schnittpunktes (z.B. HARDING et al. 1977). Ein Großteil der folgenden Arbeiten zum Aminosäurebedarf greift auf eine "Broken-line"-Analyse zurück, bei der der Schnittpunkt einer ansteigenden sowie einer horizontalen Regressionsgeraden nach der Methode der "kleinsten Quadrate" mathematisch bestimmt wird. Die Abzisse des Schnittpunktes determiniert den anzusetzenden Aminosäurebedarf. Dieser Ansatz setzt voraus, daß ein wachsendes Tier linear auf gestaffelte Zugaben eines limitierenden essentiellen Nährstoffs reagiert bis der Bedarf an diesem Nährstoff gedeckt ist (ROBBINS et al. 1979). Darüber hinaus sollen weitere Zulagen keinen Effekt auf das Wachstum haben. Nach ROBBINS et al. (1979) ist die lineare Anpassung der Werte in einigen Fällen einer nicht-linearen unterlegen, liefert jedoch bei einer guten Anpassung der Daten vergleichbare Ergebnisse. Ein Großteil der Dosis-Wirkungs-Beziehungen sind nicht-linearer Natur (FINKE et al. 1987). Zu den nicht-linearen Modellen gehört z. B. die exponentielle Anpassung der Daten, bei der die Ordinate des Bedarfswertes 95% der Asymptote der Kurve einnimmt.

Eine Zusammenfassung und vergleichende Bewertung von 46 aktuellen Publikationen ergab, daß in einem überwiegenden Teil der Bedarfsuntersuchungen von Fischen eine "Broken-line"-Analyse oder eine ANOVA (Varianzanalyse) der Meßpunkte der Dosis-Wirkungsbeziehungen zum Einsatz kam (SHEARER 2000). Eine Reevaluation der abgeleiteten Werte mittels nicht-linearer Anpassung der Versuchsdaten durch SHEARER (2000) ergab, daß beide Verfahren in einer Vielzahl der untersuchten Fälle

zu einer erheblichen Unterschätzung des Bedarfs führten. Eine Empfehlung für die Wahl eines generell anwendbaren, nicht-linearen Modells für die Auswertung von Dosis-Wachstums-Versuchen zur Ermittlung des Bedarfs an essentiellen Aminosäuren existiert nicht und hängt im wesentlichen vom gewählten Konzentrationsbereich der limitierenden Aminosäure ab (RODEHUTSCORD & PACK 1999).

2.2.2.3.4 Serum- bzw. Plasmagehalte freier essentieller Aminosäuren als Kriterien der Bedarfsdeckung

Sowohl das Blutserum als auch die Erythrocyten sind am Transport der Futteramino-säuren beteiligt (DABROWSKI 1982). WILSON et al. (1977) konnten den Lysinbedarf von Nordamerikanischen Welsen (*Ictalurus punctatus*) anhand des Gehaltes an freiem Lysin im Blutserum bestätigen. Die Autoren berichteten, daß die gemessene Konzentration freien Lysins bei limitierter Zufuhr dieser Aminosäure gering war und erst nach Erreichen eines maximalen Lebendmassezuwachses anstieg. Dieser Anstieg signalisierte einen Aminosäure-Überschuß und lag somit oberhalb des Bedarfswertes. Von weiteren Übereinstimmungen der Ableitung des Aminosäurebedarfs anhand der Serumwerte sowie des Wachstums beim Nordamerikanischen Wels berichteten HARDING et al. (1977) für Methionin, WILSON et al. (1978) für Threonin und WILSON et al. (1980) für Histidin. Die Serumkonzentrationen der verzweigtkettigen Aminosäuren interagierten bei dieser Fischart, so daß hier keine bestätigende Aussage zum Bedarf anhand dieses Parameters getroffen werden konnte (WILSON et al. 1980). Eine spätere Reevaluation des Lysinbedarfs bei einem höheren Proteingehalt zeigte keinen determinierbaren Wert mittels des Serumgehalts freien Lysins an (ROBINSON et al. 1980a). Auch der Gehalt freien Phenylalanins konnte nicht zur Bestätigung des in einer Wachstumsstudie bestimmten Bedarfs herangezogen werden (ROBINSON et al. 1980b). Die Autoren vermuteten in letzterem Fall eine Interaktion mit der semi-essentiellen Aminosäure Tyrosin.

Bei Regenbogenforellen lieferte die Untersuchung freien Tryptophans im Blut keinen Hinweis auf den Bedarf an dieser Aminosäure (WALTON et al. 1984a). Wenig erfolgreich verliefen auch weitere Untersuchungen an dieser Fischart von KAUSHIK et al. (1988) mit Arginin. Steigende Konzentrationen letzterer Aminosäure interagieren bei

Atlantischen Lachsen mit einigen freien essentiellen Aminosäuren (BERGE et al. 1997).

Eine Aussage zum Lysinbedarf von Hybrid-Streifenbarschen (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*) konnte aufgrund der Variabilität der Plasma-Meßwerte sowohl innerhalb als auch zwischen den Behandlungen nicht getroffen werden (KEEMBIYEHETTY & GATLIN 1992). Im Gegensatz dazu vermochten GRIFFIN et al. (1992, 1994b) jedoch anhand der bestimmten Konzentrationen freien Lysins bzw. Methionins im Blutserum die jeweiligen Bedarfswerte dieser Art zu bestätigen. Ähnlich wie bei anderen Arten konnte der Serumgehalt freien Arginins bei dieser Art nicht zur Festigung des Argininbedarfswertes herangezogen werden (GRIFFIN et al. 1994a). Der Serumgehalt freien Lysins zeigte bei *Seriola quinqueradiata* in Abhängigkeit von der Lysinzufuhr einen Schnittpunkt in vergleichbarer Größenordnung wie die Lebendmasseentwicklung (RUCHIMAT et al. 1997b).

THEBAULT et al. (1985) wiesen aufgrund einer Studie an Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*) auf die Bedeutung der chemischen Natur der Proteinquelle für derartige Messungen hin (siehe auch Kap. 2.2.2.3.2). Bestand die Testdiät aus einer Mischung aus natürlichen Proteinquellen ohne Supplementation kristalliner Aminosäuren, ergab sich eine typische Dosis-Wirkungsbeziehung anhand der analysierten Blutwerte, da nur in diesem Fall eine synchrone Absorption des Methionins realisiert werden konnte. Die zeitliche Differenzierung der Absorption freier und proteingebundener Aminosäure erschwert darüber hinaus die Wahl eines geeigneten Probenahme-Zeitpunktes (WALTON et al. 1984a). Der Zeitpunkt der Probenahme spielt eine besondere Rolle, wenn anhand des Gehaltes einer freien essentiellen Aminosäure in der Muskulatur eine Bedarfsaussage abgeleitet werden soll (BERGE et al. 1998).

2.2.2.3.5 Ergänzende biochemisch-physiologische Verfahren

Die Aminosäureoxidations-Methode zur Ableitung des Aminosäurebedarfs wurde von WALTON et al. (1984a) erstmals an Fischen erprobt. Dazu wurde unterschiedlichen Gruppen von Regenbogenforellen [¹⁴C]-Tryptophan in ansteigender Konzentration intraperitoneal injiziert und die Freisetzung von radioaktivem ¹⁴CO₂ im Zuge des Atmungsprozesses in Abhängigkeit von der Dosis bestimmt. Diese Methode basiert auf der Annahme, daß die untersuchte Aminosäure bei suboptimalen Konzentrationen im

wesentlichen der Synthese von Protein zugeführt wird, während oberhalb des Bedarfs der Überschuß oxidiert wird. Eine Analyse der Dosis-Wirkungs-Beziehung ergab, daß die Freisetzung markierten Kohlendioxids bei kleinen Tryptophandosen gering war und nach Überschreiten einer bestimmten Konzentration stark anstieg, der abgeleitete Bedarfswert jedoch unter dem aus einem klassischen Wachstumsexperiment lag (WALTON et al. 1984a). In einer weiteren Studie konnten die Autoren den Lysinbedarf von Regenbogenforellen mittels injiziertem [^{14}C]-Lysin bestätigen (WALTON et al. 1984b). Diese Methode wurde ebenfalls erfolgreich zur Bedarfsbestimmung einer weiteren Aminosäuren bei Regenbogenforellen angewendet (KAUSHIK et al. 1988).

Mit wechselndem Erfolg wurden weitere biochemische und physiologische Indices zur Absicherung der abgeleiteten Bedarfswerte herangezogen. Hierzu gehören Aktivitätsänderungen bestimmter, am Stoffwechsel der betreffenden Aminosäure beteiligter, Enzyme, wie z.B. die Leber-Tryptophan-Pyrrolase (WALTON et al. 1984a), die Lysin- α -Ketoglutarat-Reductase (WALTON et al. 1984b) oder die Arginase (BERGE et al. 1997), Konzentrationsänderungen von Stoffwechselprodukten wie der Ornithingehalt im Plasma (BERGE et al. 1997) oder Parameter wie der hepatosomatische Index (HSI), der Auskunft zum Masseverhältnis zwischen Leber und Körper gibt (RUCHIMAT et al. 1997a).

Eine Besonderheit der Beurteilung von Bedarfswerten für die Aminosäure Methionin bei Salmoniden leitet sich aus der Beobachtung ab, daß diese Fischgruppe infolge einer defizitären Versorgung mit schwefelhaltigen Aminosäuren Katarakte der Augenlinsen ausbildet (COWEY et al. 1992). COWEY et al. (1992) berichteten, daß der Methioninbedarf zur Vermeidung von pathologischen Abnormalitäten der Augenlinse höher war als derjenige, der maximales Wachstum gewährleistete.

2.2.2.3.6 Exponentielles N-Verwertungsmodell

Eine weitere Methode zur Bedarfsableitung von Aminosäuren stellt das exponentielle N-Verwertungsmodell nach GEBHARDT (1966) und seine Weiterentwicklung (LIEBERT & GEBHARDT 1986) dar. Dieses kam bislang zur Bedarfsbestimmung erst-limitierender Aminosäuren bei monogastrischen Nutztieren, wie Schweinen (LIEBERT 1986; LIEBERT & GEBHARDT 1986, 1987, 1988a, b; LIEBERT et al. 1987; THONG 2003; WESSELING 2003; THONG & LIEBERT 2004a, b) und Broilern (LIEBERT

1978; RIMBACH & LIEBERT 2000; RIMBACH 2002) zum Einsatz. Grundlage dieses Ansatzes ist die Durchführung von N-Bilanz- oder Wachstumsversuchen mit Körperansatzmessung unter Verwendung von Futtermischungen mit definierter limitierender Aminosäure. Die N-Retention im Körper hängt dabei direkt von der Aufnahme der erst-limitierenden Aminosäure ab. Die unter der Bedingung der Aminosäure-Limitation bestehende lineare Beziehung zwischen Proteinqualität (b) und Konzentration der limitierenden Aminosäure im Futterprotein (c) determiniert die Wirksamkeit der untersuchten Aminosäure. Die Proteinqualität wird von den tierspezifischen Faktoren Genotyp, Geschlecht, Alter und Lebendmasse beeinflusst, die ihrerseits die Höhe des maximalen theoretischen N-Retentionsvermögens ($PD_{\max}T$) festlegen.

Die Aminosäure-Wirksamkeit (bc^{-1}) wird durch den Umfang der Freisetzung der Futteraminosäure aus dem Proteinverband, die Absorption sowie die intermediäre Verwertung bestimmt und beinhaltet somit tierspezifische wie futtermittelspezifische Anteile. Die ermittelten Werte können unter Einbezug von tatsächlich ermittelten Vorgaben zum Ausschöpfungsgrad des maximalen theoretischen N-Retentionsvermögens zur Bedarfsableitung einer bestimmten Fischart im untersuchten Lebendmassespektrum herangezogen werden. Über die tägliche Trockenmasseaufnahme in diesem Lebendmasseabschnitt ist die notwendige Aminosäurekonzentration im Futter kalkulierbar.

Eine detaillierte Darstellung zur mathematischen Modellierung des beschriebenen Ansatzes sowie zu den genannten Parametern findet sich in Kapitel 3.6.2.

3 Material und Methoden

Der vorliegenden Arbeit liegt die Fragestellung zugrunde, welche Einsatzmöglichkeiten das N-Verwertungsmodell nach GEBHARDT (1966) und seine Weiterentwicklung (LIEBERT & GEBHARDT 1986) bei der Bewertung von Futteramino­säuren in der Ernährung von Nil-Tilapien bietet und welche Aussagen zum Aminosäurebedarf sich daraus ableiten lassen. Zur Klärung der Fragestellung wurden 4 Experimente durchgeführt, die die Aminosäuren Lysin, Methionin und Cystin sowie Threonin als jeweils erstlimitierende Aminosäure betrafen.

3.1 Experimentelle Einrichtungen

Insgesamt standen 2 Kreislaufanlagen des Instituts für Tierphysiologie und Tierernährung der Georg-August-Universität zu Göttingen für die Wachstumsversuche zur Verfügung. Alle Versuche mit Ausnahme einer Anwendung der Lysin-limitierten Referenzdiät FM-Lys bzw. des Experimentes zur Lysin-Wirksamkeit von verschiedenen Erbsensorten wurden in einer aus zwei voneinander unabhängigen Teilkreisläufen bestehenden Anlage mit insgesamt 38 Becken à 320 l durchgeführt (Anlage 1), deren Funktionsweise bereits ausführlich bei OMAR (1984) sowie in einer aktualisierten Form bei MOHAMED (2002) beschrieben wurde. Der Frischwasseraustausch mit Göttinger Leitungswasser erfolgte kontinuierlich und wurde je nach ermitteltem Verschmutzungsgrad des Wassers (siehe Kapitel 3.5.1) auf 5 bis 15% des Gesamtvolumens pro Tag eingestellt.

Darüber hinaus stand eine im Jahr 2001 fertiggestellte moderne Kreislaufanlage (Anlage 2) mit einer Wasserkapazität von ca. 4,1 m³ zur Verfügung (Abb. 3.1). Das System besteht aus 50 jeweils 50 l fassenden Rundbecken-Einheiten aus schwarzem PVC, die über ein Leitungssystem mit biologisch gereinigtem und mit Luftsauerstoff angereicher­tem Wasser versorgt werden. Die Becken sind in 3 Reihen angeordnet. Der individuelle Beckenzulauf induziert eine rechtsgerichtete Kreisströmung, die abgesetzte Kotpartikel möglichst schnell über einen Auslaß am Boden des Beckens der Abflußrinne zuführt. Der Wasserstand im Becken wird über ein Steigrohr reguliert. Je nach Beckenbesatz und Futteraufnahme ist ein Wasseraustausch von ein bis mehreren Beckenvolumina pro

Stunde einstellbar. Das aus den Becken in einer Sammelrinne weggeführte Wasser wird einer mechanischen Klärung in einem Lamellenabscheider unterzogen, der in regelmäßigen Abständen durch vollständiges Ablassen gereinigt wird. Das auf diese Weise von sedimentierfähigem Material befreite Wasser gelangt über einen Überlauf in eine Kammer des Pumpensumpfes, die das vorgeklärte Wasser aufnimmt und kann von dieser über eine Pumpe dem 300 l-fassenden Biofilter bodenseitig zugeführt werden. Auf diese Weise wird ein Kunststoffgranulat mit einer hohen Oberfläche in einem Schwebestand gehalten und ständig umgewälzt (\Rightarrow Wirbelbettreaktor). Die das Substrat besiedelnden nitrifizierenden Bakterien werden auf diese Weise ständig mit reduzierten Stickstoffverbindungen aus dem Proteinstoffwechsel der Fische (NH_3 bzw. NH_4^+) versorgt und oxidieren diese über Nitrit (NO_2^-) zu Nitrat (NO_3^-). Ein Zustand optimalen Stoffumsatzes ergibt sich, wenn durch eine gleichmäßige leichte Umspülung des Materials eine ausreichende Versorgung sowie eine permanente leichte Erosion des aufgebauten Bakterienfilms erreicht wird, was zur Aufrechterhaltung einer leistungsfähigen aktiven Oberfläche des Granulats beiträgt. Eine Nitrat- oder Phosphoreliminierung findet nicht statt, da in keinem Bereich anaerobe Bedingungen vorzufinden sind. Das den Biofilter am oberen Ende verlassende, biologisch gereinigte Wasser wird in einen Tropfkörper gelenkt und stürzt in diesem kaskadenartig zurück in den Sumpf. Dabei trifft es auf eine Vielzahl von ineinandergreifenden Kunststoffformteilen, die eine Zerstäubung des Wasserstromes in kleinste Einheiten bewirken, an denen aufgrund einer starken Oberflächenvergrößerung der Vorgang des Gasaustausches erleichtert wird. Das so von überschüssigem Kohlendioxid befreite und mit Luftsauerstoff angereicherte Wasser wird in einer zweiten Kammer des Sumpfes mittels 5 Thermostatregulierter Tauchheizkörper mit einer Gesamtleistung von 15,5 kW auf 28°C erwärmt und steht hier einer weiteren Pumpeneinheit zur Verfügung, um in das die Haltungseinheiten speisende Leitungssystem eingebracht zu werden. Eine Regulierung des Wasserdrucks im Leitungssystem wird durch ein manuell zu bedienendes Regelventil erreicht, daß das von den Pumpen geförderte Wasser alternativ wieder dem Sumpf zuleitet. Der Frischwasserzustrom erfolgt diskontinuierlich und wird durch ein im Sumpf befindliches, wasserstandsgeregeltes Ventil gesteuert, so daß verdunstetes sowie bei Säuberungsarbeiten verworfenes Wasser ersetzt werden kann. Dadurch ist gewährleistet, daß sich im System akkumulierende Stoffe, wie Nitrat und Phosphat, verdünnt bzw. abgeführt werden.

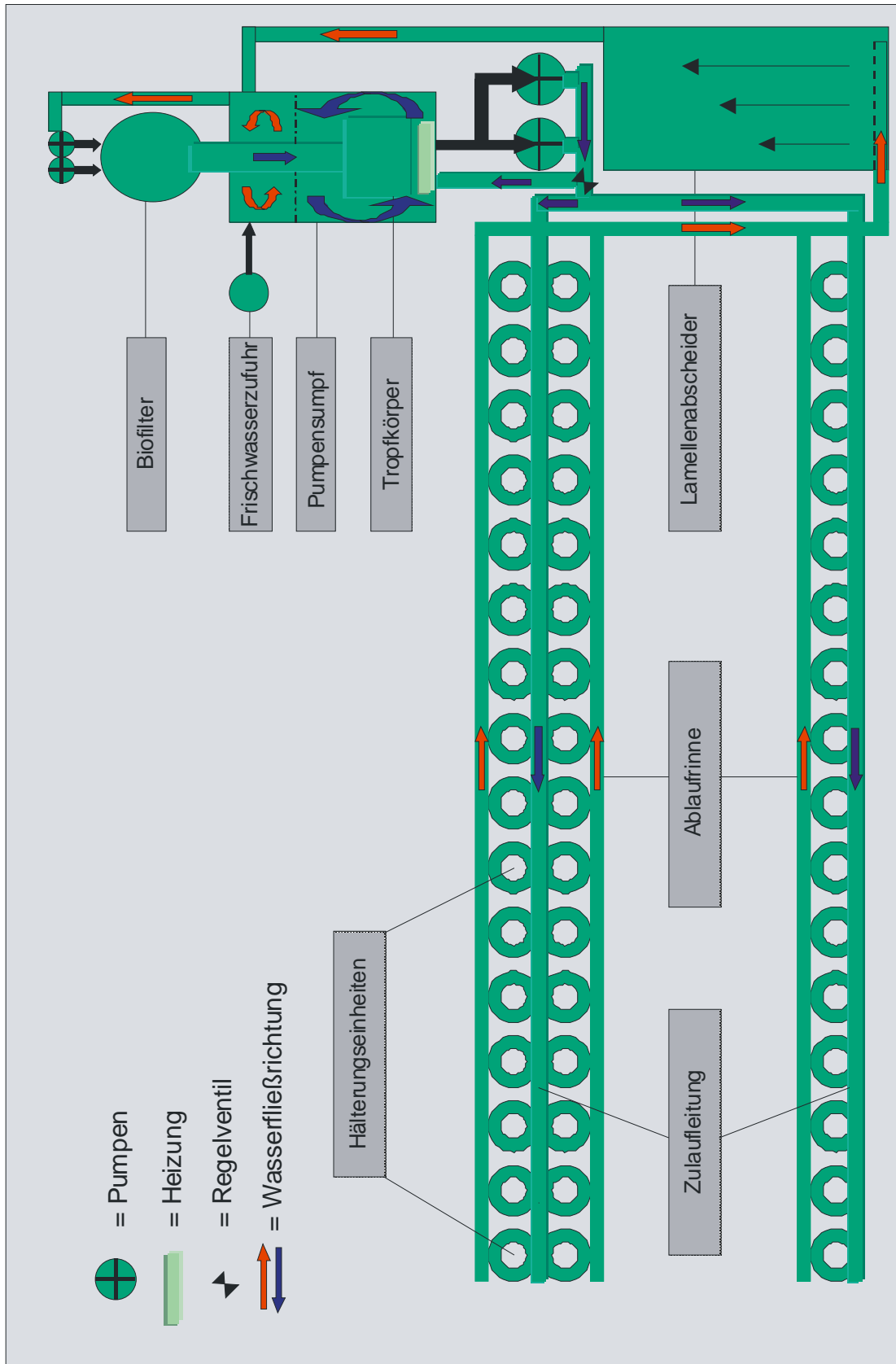


Abb. 3.1: Neue Warmwasser-Kreislaufanlage des Instituts für Tierphysiologie und Tierernährung (Anlage 2)

3.2 Tiermaterial

Für alle 4 Versuche standen junge, rein männliche Nil-Tilapien (*Oreochromis niloticus*) aus dem Institut für Tierzucht und Haustiergenetik, Göttingen, zur Verfügung. Es handelte sich um Nachkommen der Anpaarung sogenannter „super-males“, die über 2 Y-Geschlechtschromosomen verfügen, mit weiblichen Tieren des Wildtyps (2 X-Chromosomen). Die Jungtiere entstammten unterschiedlichen Gelegen derselben Gruppe von Elterntieren, auf die für die einzelnen Versuche immer wieder zurückgegriffen wurde. Die bereits freischwimmende Brut wurde in die Versuchsanlage des Instituts für Tierphysiologie und Tierernährung überführt und sofort mit fein vermahlenem Göttinger Standardfutter (vergl. MAGOUZ 1990) über Bandfutterautomaten angefüttert und kontinuierlich während der Lichtphase (12-Stunden diurnaler Rhythmus) versorgt. Die Haltungstemperatur betrug in Anlehnung an die spätere Versuchstemperatur $28,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Durch regelmäßige Größenselektion konnte gewährleistet werden, daß zum Versuchsbeginn eine ausreichende Zahl an Individuen im angestrebten Größenspektrum zur Verfügung standen. Tab. 3.1 gibt Aufschluß über die Besatzdichte der Becken zu Versuchsbeginn sowie über die jeweiligen Durchschnittsgewichte der Tilapien und andere ausgewählte Parameter.

Tab. 3.1: Ausgewählte Angaben zum Versuchsplan des Projektes

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
Aminosäure	Lys	Met + Cys	Thr	Lys (Erbsen)
Anfangs-LM Tilapien (g)	$12,9 \pm 0,04$	$13,4 \pm 0,02$	$12,6 \pm 0,06$	$11,0 \pm 0,06$
Anlage	1	1	1	2
Anzahl Fische pro Tank	25	25	25	18
Versuchs- zeitraum (d)	56	56	56	56
Anzahl Wieder- holungen	4	4	4	4

3.3 Versuchsdiäten

Dieser Abschnitt vermittelt einen Einblick in Konzeption, Herstellung und detaillierte Zusammensetzung der verwendeten Versuchsdiäten.

3.3.1 Mischungskonzeption

Auf die Konzeption der Mischungen wird im folgenden getrennt hinsichtlich der eingesetzten Proteinquellen sowie der übrigen Komponenten eingegangen.

3.3.1.1 Proteinquellen

Die Auswahl der untersuchten Proteinträger erfolgte unter zwei Gesichtspunkten: Zum einen sollten solche Proteinquellen getestet werden, die in der Fischernahrung eine besondere Rolle spielen (Fischmehl, Sojaprodukte) und zum anderen wurde Wert darauf gelegt, einheimische Körnerleguminosen (Ackerbohnen, Erbsen) sowie das Extraktionschrot der einheimischen Ölfrucht Raps einzusetzen. Zur Bewertung der Wirksamkeit der erstlimitierenden und damit die Proteinqualität bestimmenden Aminosäure wurden nach den Erfordernissen des N-Verwertungsmodells (GEBHARDT 1966) und dessen Weiterentwicklung durch LIEBERT & GEBHARDT (1986) (vergl. Kapitel 3.6.2) in den einzelnen Versuchsabschnitten Lysin-, Methionin/Cystin- und Threonin-limitierte Versuchsdiäten formuliert, die sich in ihrem Gehalt an Rohnährstoffen sowie dem Energiegehalt an die aktuellen Versorgungsempfehlungen des NRC (1993) anlehnen. In allen Versuchen kamen die gleichen Chargen der Proteinquellen zum Einsatz, um chargenbedingte Variabilitäten ausschließen zu können. Die Diäten wurden weitgehend isonitrogen formuliert. Die zugrunde gelegten Aminosäure-Bedarfswerte für Nil-Tilapien basierten auf den Angaben von SANTIAGO & LOVELL (1988).

Wies die zu untersuchende Proteinquelle bereits nativ eine Limitierung an der zu bewertenden Aminosäure auf, so konnte die Aminosäure-Wirksamkeit direkt bestimmt werden. In den Fällen, in denen das Testprotein keine oder keine ausreichende Limitanz aufwies, wurde dieses mit einem anderen Protein oder einer Proteinmischung (= Basalprotein) kombiniert. Auf diesem Weg konnte eine ausgeprägte Limitanz der untersuchten Aminosäure in der resultierenden Mischung gewährleistet werden. Um in diesem Fall auf die Aminosäure-Wirksamkeit im Testprotein schließen zu können, wurde

zusätzlich zur Mischung aus Basalprotein und Testprotein das Basalprotein hinsichtlich seiner Aminosäure-Wirksamkeit allein getestet. Die Berechnung der Ergebnisse erfolgte hier mittels des Differenzverfahrens (LIEBERT & GEBHARDT 1988a). Wichtige Voraussetzung hierfür war, daß die Einzelkomponenten der Basalmischung immer im konstanten Mischungsverhältnis zum Einsatz kamen. Der Anteil der untersuchten Aminosäure aus dem Testprotein im Verhältnis zum Anteil dieser Aminosäure im Basalprotein betrug in der Regel 50,0%. Dieser Anteil konnte im Bedarfsfall jedoch bis auf ein Drittel abgesenkt werden, um noch ein ausreichendes Limitierungsniveau der untersuchten Aminosäure in der Gesamtmischung zu gewährleisten.

Neben der Auswahl der Proteinquellen selbst und deren Kombination miteinander wurden die angestrebten Limitanzniveaus durch Supplementierung kristalliner Aminosäuren in „feed grade“-Qualität eingestellt. Dabei war die zu untersuchende Aminosäure immer nativen Ursprungs, also proteingebunden. Die Höhe der Supplementierung orientierte sich an dem Grad der Bedarfsdeckung der untersuchten Aminosäure und zwar so, daß die zweitlimitierende Aminosäure immer mindestens 25 Prozentpunkte über dem Bedarfsdeckungslevel der erstlimitierenden lag. Als Nachweis für das Vorliegen einer Aminosäurelimitierung wurde eine separate Mischung mit identischer Rezeptur angefertigt, in der die getestete Aminosäure in kristalliner Form im Austausch gegen Weizenstärke supplementiert und so das Versorgungsniveau an dieser Aminosäure um 25 Prozentpunkte angehoben.

3.3.1.2 Energieträger, Mineralien und Vitamine

Als Hauptenergielieferanten dienten Weizenstärke sowie ein 50%iges Gemisch aus Soja- und Fischöl. Das Sojaöl diente der Bedarfsdeckung an Linolsäure (18:2, ω 6), die für Nil-Tilapien essentiell ist (TAKEUCHI et al. 1983), wohingegen das Fischöl die Akzeptanz der überwiegend aus pflanzlichen Komponenten bestehenden Diäten für die Tiere erhöhen sollte. Grundlegendes Prinzip war es, in bezug auf den Ölgehalt der Pellets die Bedarfsempfehlung für Rohlipide auszuschöpfen, um eine möglichst effektive Verwertung der dargebotenen Proteine zu erreichen (= „Protein-Spareffekt“). Insgesamt waren alle Diäten weitgehend isoenergetisch. Um den Bedarf an Makromineralien zu decken, kamen Dicalciumphosphat (DCP), Kaliumsulfat (K_2SO_4) sowie Magnesium-

oxid (MgO) zum Einsatz. Ein kommerzieller Premix (Deutsche Vilomix GmbH) diente als Vitamin- und Spurenelementquelle (siehe Tab. 3.2). Als Pelletierhilfe diente Carboxymethylcellulose (CMC). In jedem Fall wurden die Bedarfsangaben des NRC (1993) beachtet. Nähere Angaben zur Zusammensetzung der Diäten, sowie zu deren Rohnährstoff- und Energiegehalt finden sich im Kapitel 3.3.3.

Tab. 3.2: Zusammensetzung des Vitamin- und Spurenelement-Premixes (je kg Premix)

Vitamin/Spurenelement	pro kg Premix	Vitamin/Spurenelement	pro kg Premix
Vitamin A	4.000.000 I. E.	P-Amino-Benzoesäure	20.000 mg
Vitamin D3	400.000 I. E.	Folsäure	1.000 mg
Vitamin E	40.000 mg	Biotin	300.000 mcg
Vitamin B1	3.000 mg	Inosit	50.000 mg
Vitamin B2	4.000 mg	Eisen	25.000 mg
Vitamin B6	3.000 mg	Kupfer	1.200 mg
Vitamin B12	8.000 mcg	Mangan	4.000 mg
Vitamin K3	1.200 mg	Zink	6.000 mg
Vitamin C	50.000 mg	Iod	400 mg
Nikotinsäure	30.000 mg	Selen	20 mg
Ca-Pantothenat	10.000 mg	Kobalt	200 mg

3.3.2 Herstellung

Die Extraktionsschrote, die Körnerleguminosen und der Weizen wurden vor dem Einsatz mit einer Hammermühle (Fa. Neuro) unter Verwendung eines Sieblochdurchmessers von 1,5 mm vermahlen. Anschließend wurde für jedes Versuchsfutter eine Vormischung bestehend aus denjenigen Komponenten mit einem Anteil von $\leq 5\%$ hergestellt, die mittels eines der Proteinträger der Hauptmischung auf 1 kg aufgefüllt wurde. Der anschließende Mischvorgang erfolgte in einem Exaktmischer (Fa. Lödige). Die so erstellte Vormischung wurde darauf in einem 5 bzw. 50 kg-Exaktmischer (Fa. Lödige) mit den Hauptkomponenten vermischt, wobei die Ölzugabe nach 5 Minuten und eine Wasserzugabe von 12,0-13,5% nach weiteren 5 Minuten Mischzeit erfolgte. Das fertige Gemisch wurde mit Hilfe einer Pelletpresse (Fa. Lister) unter Zuhilfenahme einer Lochmatrize von 2,2 mm pelletiert und anschließend entweder auf dem Futterboden ausgebreitet oder bei 50°C über Nacht in einem Umlufttrockner getrocknet. Nach

Abschluß des Trocknungsvorgangs wurden die Pellets bis zur Verfütterung bei 4°C gelagert.

3.3.3 Versuchsdiäten

3.3.3.1 Lysin-limitierte Futtermischungen

In dem vorliegenden Versuchabschnitt war Lysin die limitierende Aminosäure. Es kamen neben einer Basaldiät 6 Testdiäten zum Einsatz, deren Zusammensetzung und Analyse in den Tabellen 3.3 bis 3.5 dargestellt wird. In allen Testdiäten stammten 50,0% des Lysins aus der Basalmischung. Die Diät FM-Lys diente als Referenzdiät und wurde parallel zu allen Versuchen gefüttert, um versuchsübergreifende bzw. anlagen-spezifische Entwicklungen dokumentieren zu können.

Tab. 3.3: Zusammensetzung der Lysin-limitierten Futtermischungen (g/kg)

Komponenten	Basaldiät	Testdiäten					
	B-Lys	FM-Lys	S-Lys	SPC-Lys	SF-Lys	R-Lys	Bo-Lys
Maiskleber	60,0	44,0	42,0	41,0	41,0	39,0	42,0
Weizenkleber	205,0	150,0	143,0	141,0	140,0	132,0	143,0
Rapsextraktionsschrot	80,0	58,0	56,0	55,0	54,0	346,0	56,0
Sojaextraktionsschrot	110,0	80,0	278,0	76,0	75,0	71,0	77,0
Weizen	200,0	146,0	139,0	137,0	136,0	129,0	139,0
Fischmehl		112,0					
Sojaproteinkonzentrat				148,0			
Sojaflakes					182,0		
Ackerbohnen							341,0
Fisch-/Sojaöl (1:1)	79,0	80,0	82,0	82,0	80,0	85,0	83,0
Weizenstärke	180,6	239,8	170,1	230,3	202,4	110,4	26,8
CMC	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
DCP	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
K ₂ SO ₄	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
MgO	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Premix*	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
DL-Met	1,98	3,32	4,39	4,09	3,98	3,22	5,31
L-Thr	0,44	3,24	2,41	2,48	2,47	1,33	3,32
L-Trp		0,51	0,14	0,11	0,10		0,54
L-Arg		0,10					
	B-Lys-S	FM-Lys-S	S-Lys-S	SPC-Lys-S	SF-Lys-S	R-Lys-S	Bo-Lys-S
zusätzlich:							
L-Lys-HCl	4,38	4,45	4,41	4,44	4,32	4,48	4,30

* Zusammensetzung des Premixes siehe Tab. 3.2

Tab. 3.4: Rohrnährstoff- und Energiegehalte (% TS) sowie Protein: Energie-Verhältnis der Futtermischungen

Rohnährstoff	Basaldiät	Testdiäten					
	B-Lys	FM-Lys	S-Lys	SPC-Lys	SF-Lys	R-Lys	Bo-Lys
XP	33,52	33,74	33,85	33,72	33,86	33,33	33,85
XL	11,07	11,75	11,41	11,10	11,12	12,21	11,34
XA	8,08	9,14	8,72	8,47	8,65	9,62	8,73
XF	4,65	3,86	5,70	4,49	4,35	7,90	6,64
NfE	42,68	41,51	40,32	42,21	42,03	36,94	39,44
TS	91,53	91,39	91,88	91,35	91,93	92,27	91,90
GE ¹	19,62	20,01	19,74	19,63	19,98	20,28	20,26
ME ²	16,47	16,58	16,31	16,45	16,46	16,01	16,16
P:GE ³	17,08	16,86	17,15	17,17	16,95	16,44	16,71

^{1,2}Brutto- bzw. umsetzbare Energie in MJ/kg TS

²Berechnung nach SHIAU & PENG (1993)

³Protein-zu-Energie-Verhältnis in mg XP/kJ

Tab. 3.5: Kalkulierte Bedarfsdeckung an ausgewählten essentiellen Aminosäuren (%)¹

Aminosäure	Basaldiät	Testdiäten					
	B-Lys	FM-Lys	S-Lys	SPC-Lys	SF-Lys	R-Lys	Bo-Lys
Lysin	61	90	85	84	84	79	85
Methionin	86	115	110	109	109	104	110
M+C	148	162	164	164	162	169	160
Threonin	86	115	110	109	109	104	110
Tryptophan	98	115	110	109	109	108	110
	B-Lys-S	FM-Lys-S	S-Lys-S	SPC-Lys-S	SF-Lys-S	R-Lys-S	Bo-Lys-S
zusätzlich:							
Lysin	86	115	110	109	109	104	110

¹Die Angaben beziehen sich auf die Versorgungsempfehlungen des NRC (1993) und analysierte Gehaltswerte der Komponenten

3.3.3.2 Lysin-limitierte Futtermischungen mit unterschiedlichen Erbsenchargen

Zielstellung dieses Versuchsabschnitts war, in Anlehnung an den vorherigen Teilversuch, die Variabilität der Lysin-Wirksamkeit in verschiedenen Herkünften von Futtererbsen zu untersuchen. Dazu wurden 6 verschiedene Erbsensorten, die in Tab. 3.7 näher charakterisiert werden, in Verbindung mit einer Lysin-limitierten Basaldiät eingesetzt. Zusätzlich wurde die Sorte „Erbsen A“ zwei unterschiedlichen hydrothermischen

Behandlungsverfahren unterzogen, um deren Einfluß auf die Lysin-Wirksamkeit zu erfassen. Die Behandlung wurde im Technikum der Fa. AmandusKahl (Reinbek) durchgeführt und beinhaltete sowohl eine Kurzzeit-Konditionierung (T = 85°C, Dauer: 1 min → Erbse A1) als auch eine Langzeit-Konditionierung (T = 100°C, Dauer: 10 min → Erbse A2).

Angaben zur Zusammensetzung und Analyse der Mischungen finden sich in den Tabellen 3.6, 3.8 und 3.9. Da die eingesetzte Menge an Erbsen in allen Diäten konstant war, variierte ihr Lysinanteil infolge unterschiedlicher analysierter Lysingehalte an den Gesamtmischungen zwischen 31,6 und 35,1%.

Tab. 3.6: Zusammensetzung der Lysin-limitierten, erbsenhaltigen Futtermischungen (g/kg)

Komponenten	Basaldiät	Testdiäten							
	BE-Lys	EA-Lys	EA1-Lys	EA2-Lys	EB-Lys	EC-Lys	ED-Lys	EE-Lys	EF-Lys
Weizenkleber	220,0	177,0	177,0	177,0	177,0	177,0	177,0	177,0	177,0
Weizen	300,0	241,0	241,0	241,0	241,0	241,0	241,0	241,0	241,0
Fischmehl	121,0	97,0	97,0	97,0	97,0	97,0	97,0	97,0	97,0
Erbse A		272,0							
Erbse A1			272,0						
Erbse A2				272,0					
Erbse B					272,0				
Erbse C						272,0			
Erbse D							272,0		
Erbse E								272,0	
Erbse F									272,0
Fisch-/Sojaöl (1:1)	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0	80,0
Weizenstärke	194,3	44,4	44,4	44,4	44,8	44,1	44,1	44,0	43,7
CMC	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
DCP	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
K ₂ SO ₄	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
MgO	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Premix*	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
DL-Met	2,04	3,96	3,96	3,96	3,82	4,22	4,09	4,11	4,30
L-Thr	2,55	3,94	3,94	3,94	3,69	3,95	4,05	4,17	4,31
L-Trp	0,10	0,66	0,66	0,66	0,64	0,71	0,74	0,74	0,67
	BE-Lys-S	EF-Lys-S							
zusätzlich:									
L-Lys-HCl	5,46	5,32							

* Zusammensetzung des Premixes siehe Tab. 3.2

Tab. 3.7: Übersicht über die verwendeten Erbsensorten

Erbse	Erntejahr	Sorte	Herkunft
A	2000	Duell	Reinshof
B	2001	Brutus	Dramfeld
C	2001	Classic	Stockhausen
D	2001	Catania	Bergen-Wohlde
E	2001	Laser	Bergen-Wohlde
F	2001	Santana	Bergen-Wohlde

Tab. 3.8: Rohnährstoff- und Energiegehalte (% TS) sowie Protein:Energie-Verhältnis der Futtermischungen

Komponenten	Basaldiät	Testdiäten							
	BE-Lys	EA-Lys	EA1-Lys	EA2-Lys	EB-Lys	EC-Lys	ED-Lys	EE-Lys	EF-Lys
XP	33,85	32,88	32,85	32,61	33,33	33,55	33,32	33,69	33,49
XL	12,05	12,09	11,74	12,04	11,96	12,06	11,77	11,70	11,75
XA	7,95	8,34	8,25	8,27	8,44	8,25	8,31	8,20	8,31
XF	2,62	4,05	4,05	4,05	4,04	4,16	4,20	4,07	3,83
NfE	43,54	42,63	43,11	43,03	42,22	41,97	42,39	42,35	42,62
TS	92,99	93,12	94,37	94,77	94,47	94,78	94,86	94,51	94,59
GE ¹	20,24	20,17	20,15	20,22	20,15	20,18	20,19	19,98	20,01
ME ²	17,01	16,71	16,65	16,70	16,69	16,73	16,64	16,68	16,70
P:GE ³	16,72	16,31	16,31	16,13	16,54	16,63	16,50	16,86	16,74

^{1,2}Brutto- bzw. umsetzbare Energie in MJ/kg TS

²Berechnung nach SHIAU & PENG (1993)

³Protein-zu-Energie-Verhältnis in mg XP/kJ

Tab. 3.9: Kalkulierte Bedarfsdeckung an ausgewählten essentiellen Aminosäuren (%)¹

Aminosäure	Basaldiät	Testdiäten							
	BE-Lys	EA-Lys	EA1-Lys	EA2-Lys	EB-Lys	EC-Lys	ED-Lys	EE-Lys	EF-Lys
Lysin	75	92	92	92	88	90	91	91	92
Methionin	100	117	117	117	113	115	116	116	117
M+C	151	167	167	167	161	161	162	162	164
Threonin	100	117	117	117	113	115	116	116	117
Tryptophan	100	117	117	117	113	115	116	116	117
	BE-Lys-S	EF-Lys-S							
zusätzlich:									
Lysin	100	117							

¹Die Angaben beziehen sich auf die Versorgungsempfehlungen des NRC (1993) und analysierte Gehaltswerte der Komponenten

3.3.3.3 Methionin/Cystin-limitierte Futtermischungen

In dem vorliegenden Versuchsabschnitt waren 5 Diäten Methionin/Cystin-limitiert, wobei eine native Limitierung dieser Aminosäure den direkten Einsatz der Sojaproteine ermöglichte. Sojaextraktionsschrot diente als Basaldiät für die Proteinträger Fischmehl und Rapsextraktionsschrot. Letztere stellten 33,3 bzw. 50,0% des Methionin/Cystins in der Testmischung. Neben dem internen Standard (Referenzdiät) kam die Lysin-limitierte Mischung mit Sojaflakes aus dem ersten Versuchsabschnitt (Kap. 3.3.3.1) zum Einsatz. Da eine nach diesem Abschnitt durchgeführte analytische Erfassung der Trypsin-Inhibitoren einen hohen Gehalt in diesem antinutritiven Faktor aufwies (vergl. Tab. 3.16), wurden die Sojaflakes vor dem Einsatz im Technikum der Fa. Amandus-Kahl (Reinbek) hydrothermisch behandelt (10 min bei 100°C und ca. 12% Dampfzugabe). Darüber hinaus wurde der interne Standard parallel in Kreislaufanlage 2 getestet, um Anlageneffekte bzw. den Einfluß unterschiedlicher Haltungsdichten zu untersuchen. Die Tabellen 3.10 bis 3.12 geben einen Überblick über die Zusammensetzung und die Analyse der Diäten.

Tab. 3.10: Roh Nährstoff- und Energiegehalte (% TS) sowie Protein:Energie-Verhältnis der Futtermischungen

Komponenten	Basaldiät			Testdiäten I		Testdiät II	Standard
	Soja-Met	SPC-Met	SF _{Hitze} -Met	FM-Met	R-Met	SF _{Hitze} -Lys	FM-Lys
XP	33,09	33,19	33,36	33,32	32,95	33,33	33,59
XL	12,31	10,18	10,12	10,63	11,59	10,86	11,97
XA	9,82	8,85	9,45	10,32	11,09	8,26	8,85
XF	8,13	4,15	3,76	6,88	10,62	4,35	3,86
NfE	36,64	43,64	43,32	38,85	33,75	43,21	41,72
TS	87,97	86,57	88,32	87,82	88,28	88,29	87,70
GE ¹	19,66	19,33	19,42	19,70	19,51	19,84	20,04
ME ²	15,96	16,23	16,20	15,72	15,25	16,44	16,67
P:GE ³	16,83	17,17	17,17	16,91	16,89	16,80	16,76

^{1,2}Brutto- bzw. umsetzbare Energie in MJ/kg TS

²Berechnung nach SHIAU & PENG (1993)

³Protein-zu-Energie-Verhältnis in mg XP/kJ

Tab. 3.11: Zusammensetzung der Methionin/Cystin- und Lysin-limitierten Futtermischungen (g/kg)

Komponenten	Basaldiät				Testdiäten I		Testdiät II	Standard
	Soja-Met	SPC-Met	SF _{Hitze} -Met	FM-Met	R-Met	SF _{Hitze} -Lys	FM-Lys	
Sojaextraktionsschrot	667,0			536,0	379,0	75,0	80,0	
Sojaproteinkonzentrat		474,0						
Sojafakes, behandelt			582,0			182,0		
Fischmehl				83,0			112,0	
Rapsextraktionsschrot					361,0	54,0	58,0	
Maiskleber						41,0	44,0	
Weizenkleber						140,0	150,0	
Weizen						136,0	146,0	
Fisch-/Sojaöl (1:1)	95,0	89,0	77,0	77,0	77,0	74,0	80,0	
Weizenstärke	157,0	356,0	260,0	223,0	102,0	210,4	241,8	
CMC	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	
DCP	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	
K ₂ SO ₄	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	
MgO	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
Premix*	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	
DL-Met						3,98	3,32	
L-Thr						2,47	3,24	
L-Trp						0,10	0,51	
L-Arg							0,10	
	B-Met-S	SPC-Met-S	SF-Met-S	FM-Met-S	R-Met-S	SF_{Hitze}-Lys-S	FM-Lys-S	
zusätzlich:								
DL-Met	2,31	2,33	2,34	2,38	2,32			
L-Lys-HCl						4,32	4,45	

* Zusammensetzung des Premixes siehe Tab. 3.2

Tab. 3.12: Kalkulierte Bedarfsdeckung an ausgewählten essentiellen Aminosäuren (%)¹

Aminosäure	Basaldiät				Testdiäten I		Testdiät II	Standard
	Soja-Met	SPC-Met	SF _{Hitze} -Met	FM-Met	R-Met	SF _{Hitze} -Lys	FM-Lys	
Lysin	142	135	133	147	129	84	90	
Methionin	59	67	66	72	68	109	115	
M+C	108	116	114	113	129	162	162	
Threonin	110	105	105	110	112	109	115	
Tryptophan	129	123	127	123	128	109	115	
	B-Met-S	SPC-Met-S	SF-Met-S	FM-Met-S	R-Met-S	SF_{Hitze}-Lys-S	FM-Lys-S	
zusätzlich:								
Lysin						109	115	
Methionin	84	92	91	97	93			

¹Die Angaben beziehen sich auf die Versorgungsempfehlungen des NRC (1993) und analysierte Gehaltswerte der Komponenten

3.3.3.4 Threonin-limitierte Futtermischungen

Die hier untersuchte Aminosäure war Threonin. Es kamen neben dem internen Standard (Referenzdiät) eine Threonin-limitierte Basalmischung sowie 5 Testproteine zum Einsatz. Wie auch im vorangegangenen Versuch (Kap. 3.3.3.3) wurden hydrothermisch behandelte Sojaflakes verwendet. Angaben zur Zusammensetzung und Analyse der Mischungen finden sich in den Tabellen 3.13 bis 3.15. Bis auf das Testprotein Rapsextraktionsschrot, von dem 33,3% des Threonins in den Testmischungen stammte, stellten die anderen Testproteine 40,0% des Gesamtthreonins der Mischungen.

Tab. 3.13: Zusammensetzung der Threonin- und Lysin-limitierten Futtermischungen (g/kg)

Komponenten	Basaldiät	Testdiäten					Standard
	B-Thr	FM-Thr	S-Thr	SPC-Thr	SF _{Hitze} -Thr	R-Thr	FM-Lys
Weizenkleber	258,0	175,0	178,0	175,0	175,0	194,0	150,0
Weizen	400,0	272,0	276,0	271,0	271,0	301,0	146,0
Fischmehl	60,0	175,0	41,0	41,0	41,0	45,0	112,0
Sojaextraktionsschrot			206,0				80,0
Sojaproteinkonzentrat				151,0			
Sojaflakes, behandelt					187,0		
Rapsextraktionsschrot						204,0	58,0
Maiskleber							44,0
Fisch-/Sojaöl (1:1)	76,0	80,0	80,0	78,0	76,0	78,0	80,0
Weizenstärke	112,5	211,4	128,5	194,1	159,9	84,9	241,8
CMC	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
DCP	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
K ₂ SO ₄	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
MgO	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Premix*	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	6,0
DL-Met	2,86	2,23	4,16	3,78	3,89	3,47	3,32
L-Lys-HCl	9,52	3,93	6,18	6,00	6,14	8,54	3,24
L-Trp	0,10	0,44	0,17	0,10	0,10	0,10	0,51
L-Arg	0,99					0,94	0,10
	B-Thr-S	FM-Thr-S	S-Thr-S	SPC-Thr-S	SF_{Hitze}-Thr-S	R-Thr-S	FM-Lys-S
zusätzlich:							
L-Thr	3,27	3,21	3,24	3,19	3,19	3,19	
L-Lys-HCl							4,45

* Zusammensetzung des Premixes siehe Tab. 3.2

Tab. 3.14: Rohnährstoff- und Energiegehalte (% TS) sowie Protein:Energie-Verhältnis der Futtermischungen

Komponenten	Basaldiät	Testdiäten					Standard
	B-Thr	FM-Thr	S-Thr	SPC-Thr	SF _{Hitze} -Thr	R-Thr	FM-Lys
XP	33,99	32,89	33,53	32,91	33,44	33,91	33,19
XL	11,75	12,28	11,70	10,91	11,27	12,19	11,55
XA	7,35	8,77	8,08	7,62	7,80	8,39	9,06
XF	2,88	2,53	4,50	3,28	3,16	5,57	3,86
NfE	44,03	43,54	42,19	45,28	44,33	39,94	42,34
TS	95,31	94,92	94,44	93,92	94,11	94,46	94,86
GE ¹	20,16	20,08	20,15	20,01	20,07	20,31	19,91
ME ²	17,00	16,91	16,63	16,68	16,77	16,55	16,53
P:GE ³	16,86	16,38	16,64	16,45	16,66	16,70	16,67

^{1,2}Brutto- bzw. umsetzbare Energie in MJ/kg TS

²Berechnung nach SHIAU & PENG (1993)

³Protein-zu-Energie-Verhältnis in mg XP/kJ

Tab. 3.15: Kalkulierte Bedarfsdeckung an ausgewählten essentiellen Aminosäuren (%)¹

Aminosäure	Basaldiät	Testdiäten					Standard
	B-Thr	FM-Thr	S-Thr	SPC-Thr	SF _{Hitze} -Thr	R-Thr	FM-Lys
Lysin	100	110	111	109	109	109	90
Methionin	100	110	111	109	109	109	115
M+C	159	154	163	161	161	170	162
Threonin	75	85	86	84	84	84	115
Tryptophan	100	110	111	109	109	109	115
	B-Thr-S	FM-Thr-S	S-Thr-S	SPC-Thr-S	SF _{Hitze} -Thr-S	R-Thr-S	FM-Lys-S
zusätzlich:							
Lysin							115
Threonin	100	110	111	109	109	109	

¹Die Angaben beziehen sich auf die Versorgungsempfehlungen des NRC (1993) und analysierte Gehaltswerte der Komponenten

3.4 Versuchsdurchführung - Beckenbesetzung und Probennahme

In einem Lebendmassebereich von 9 bis 15g wurden die Tiere an einem Stichtag in Gruppen à 25 (im Versuchsabschnitt zur Lysin-Wirksamkeit von erbsenhaltigen Mischungen à 18) Individuen gleichmäßig auf die Versuchsbecken verteilt. Dieser Stichtag markierte den Beginn des achtwöchigen Wachstumsversuches, und es wurde ohne vorhergehende Futteradaptationsphase auf die jeweilige experimentelle Diät umgestellt. Nähere Angaben zum Versuchsdesign der 4 Versuche liefert Tabelle 3.1. Ein Tag-Nacht-Rhythmus von 12 Stunden wurde beibehalten; ebenso wurde die Haltungstemperatur von 28°C aus der Haltungsperiode der Tiere übernommen. Jedes Versuchsfutter wurde zufällig 4 Becken zugeordnet (4 Wiederholungen); ein weiteres Becken erhielt das mit der untersuchten Aminosäure supplementierte Futter. In Versuchsabschnitt 4 wurde darauf verzichtet, jede Erbsenmischung zusätzlich mit Lysin ergänzt zu testen. Stattdessen wurde die Basaldiät supplementiert sowie die in bezug auf die Versorgungsempfehlungen des NRC (1993) am schwächsten Lysin-limitierte Erbsendiät.

Die Versuchstiere wurden täglich dreimal per Hand bis zur scheinbaren Sättigung mit Pellets (Durchmesser: ca. 2,5 mm) gefüttert, wobei aufgrund sehr unterschiedlicher Akzeptanz der Diäten, die sich innerhalb einer gesamten Versuchsperiode durchaus mehrmals verändern konnte, auf ein starres System der Zuteilung nach Lebendmassangaben verzichtet wurde. Nicht verzehrte Pellets wurden gezählt, mit dem Durchschnittsgewicht eines Pellets des betreffenden Versuchsfutters multipliziert und bei der Ermittlung des Futtermittelsverzehrs berücksichtigt. In einem zweiwöchigen Rhythmus wurde in jeder Beckeneinheit die Lebendmasseentwicklung sowie der Futtermittelsverzehr ermittelt.

Zur Dokumentation des Stickstoffgehaltes der Tiere bei Versuchsbeginn wurde eine bezüglich der Lebendmasse repräsentative Gruppe von zehn Tieren (Nullgruppe) ausgewählt und getötet. Nach Ablauf der Hälfte der Versuchsdauer (28 Tage) sowie am Ende (56 Tage) wurden jedem Becken am Morgen des folgenden Tages 3 - über Nacht genücherte - Tiere, deren Individualgewicht der mittleren Lebendmasse des Beckens am nächsten lag, entnommen, mit einer Überdosis des Betäubungsmittels Ethylenglycolmonophenylether getötet und bis zum Beginn der Ganzkörperanalyse bei -18°C eingefroren.

3.5 Analytik

Sämtliche Probenanalysen wurden am Institut für Tierphysiologie und Tierernährung, Göttingen, durchgeführt. Lediglich die Ermittlung der Trypsin-Inhibitor-Konzentration in den Sojaproteinen wurde am IFF-Forschungsinstitut für Futtermitteltechnik (Braunschweig/Thune) vorgenommen.

3.5.1 Physico-chemische Parameter der Anlagenwasserkörper

Neben der täglichen Kontrolle der Wassertemperatur wurde 2 mal wöchentlich die Belastung des Wassers mit anorganischen Stickstoffverbindungen (NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) sowie der pH-Wert bestimmt. Dazu wurde eine Wasserprobe aus dem Pumpensumpf entnommen und anschließend die Meßwerte im Labor mittels kolorimetrischer Schnelltests der Fa. Merck (Spectroquant®) photometrisch bestimmt. Der pH-Wert wurde mittels einer Meßsonde erfaßt. Folgende Werte zur Stickstoffbelastung wurden maximal vorgefunden: NH_4^+ : 0,2 mg/l; NO_2^- : 0,1 mg/l; NO_3^- : 50 mg/l. Der pH-Wert lag im neutralen bzw. leicht alkalischen Bereich mit Werten von 7-8. Die Wasserqualität wurde durch regelmäßige Säuberungen der Becken sowie durch eine Steuerung des Frischwasserzuflusses aufrechterhalten. Die mittlere Wassertemperatur betrug in allen Versuchen 28°C, wobei eine Schwankung von $\pm 0,3^\circ\text{C}$ toleriert wurde.

3.5.2 Analytische Aufarbeitung der Einzelkomponenten und der Futtermischungen

Sowohl die Proben der einzelnen Proteinquellen als auch die für den Versuch bereitgestellten Pellets wurden vor dem Beginn der Analysen mittels eines 0,5 mm-Siebeinsatzes in einer Mühle zerkleinert.

3.5.2.1 Gehalt an Trypsin-Inhibitoren

Die Trypsin-Inhibitor-Konzentration in den Sojaproteinen wurde anhand der AOCS-Methode Ba 12-75 (1990) am IFF (Braunschweig/Thune) durchgeführt. Die Ergebnisse, die in Tab. 3.16 dargestellt werden, zeigen über den Faktor 10 hinausgehende Werte für die im ersten Versuch eingesetzten, nicht behandelten Sojaflakes gegenüber den anderen Sojaproteinen. Eine daraufhin veranlaßte Konditionierung der Sojaflakes sollte

in den Folgeversuchen die Akzeptanz der Fische gegenüber dieser Proteinquelle erhöhen und Aufschluß über deren Aminosäure-Wirksamkeit geben.

Tab. 3.16: Gehalt an Trypsin-Inhibitoren in den eingesetzten Sojaproteinen

Futtermittel	Trypsin-Inhibitor (TIU/mg DM)
Sojaflakes, unbehandelt	79
Sojaproteinkonzentrat	7,3
Sojaextraktionsschrot	6,5

3.5.2.2 Bruttoenergie (GE) und umsetzbare Energie (ME)

Der Bruttoenergiegehalt wurde in den Futtermischungen mit dem adiabatischen Bombenkalorimeter AC-350 (Fa. Leco) bestimmt. Dazu wurde eine Probe in einer unter Druck stehenden Sauerstoffatmosphäre verbrannt und anhand der Wärmeenergieabgabe im Vergleich zu einem Standard (Benzoesäure) der kalorische Wert des Material bestimmt.

Die umsetzbare Energie wurde rechnerisch nach folgender Gleichung von SHIAU & PENG (1993) ermittelt:

$$\text{ME (MJ/kg)} = (18,8 \cdot \text{XP} (\%) + 35,6 \cdot \text{XL} (\%) + 14,6 \cdot \text{NfE} (\%)) / 100 \quad (1)$$

3.5.2.3 Rohnährstoffe und Aminosäuren

Als Durchführungsanleitung für die Weender Rohnährstoffanalytik dienten die bei NAUMANN & BASSLER (1976-1997) beschriebenen amtlichen VDLUFA-Analyseverfahren. Der Stickstoffgehalt wurde nach der Methode von DUMAS (1990) mit dem automatischen Stickstoff-Analysator FP-2000 (Fa. Leco) ermittelt. Das Meßprinzip beruht auf einer vollständigen oxigenen Verbrennung der eingebrachten Probe bei einer Temperatur von $>1000^{\circ}\text{C}$. Die aus dem Stickstoffanteil der Probe stammenden Stickoxide werden von den anderen Verbrennungsgasen getrennt und mittels eines Katalysators zu elementarem Stickstoff reduziert. Dieser wird in einer Wärmeleitfähigkeits-Meßzelle detektiert und daraus der Stickstoffanteil der Ausgangsprobe berechnet.

Die Aminosäureanalytik erfolgte säulenchromatographisch durch Ionenaustausch mit dem automatischen Aminosäureanalysator LC 3000 A-00166 (Fa. Eppendorf). Zur Vorbereitung wurde die Probe einer sauren Hydrolyse mit 6 N Salzsäure unterzogen.

Dabei wurden die Aminosäuren Methionin und Cystein sowie das Tryptophan zerstört. Die schwefelhaltigen Aminosäuren mußten deshalb in einem ersten vorbereitenden Schritt in Gegenwart von Wasserstoffperoxid und phenolhaltiger Ameisensäure oxidiert werden, bevor die Proteinbausteine durch Hydrolyse voneinander getrennt werden konnten. Das gewonnene Hydrolysat wurde in beiden Fällen mit einer 2 N Natronlauge in einer Pufferlösung auf einen pH-Wert von 2,2 titriert und mit der Aminosäure Norleucin - als internem Eichstandard - versetzt in den Autosampler des Aminosäureanalysators appliziert. Die Trennung der Aminosäuren erfolgte durch Elution mit Pufferlösungen verschiedenen pH-Wertes, wobei eine Anfärbung des Eluats mit Ninhydrin-Reagenz eine photometrische Extinktionsmessung in einer Durchflußküvette ermöglichte. Die Berechnung der Peakflächen der Chromatogramme der einzelnen Aminosäuren erfolgte im Vergleich zu einem Standard sowie Norleucin als innerem Standard und lieferte die jeweiligen Aminosäure-Konzentrationen im Probenmaterial. Da die Aminosäure Tryptophan mit dem oben beschriebenen Verfahren einer quantitativen Bestimmung nicht zugänglich war, wurde diese anhand des Rohproteingehaltes mit Hilfe einer Regression des Programms AminoDat 1.1 (DEGUSSA 1997) regressiv berechnet.

Als Grundlage für die Mischungskalkulation dienten die Ergebnisse aus den Rohprotein- und Aminosäureanalysen, die in den einheitlichen Chargen der Proteinträger durchgeführt wurden. Ferner wurde der Rohfasergehalt in den Einzelkomponenten ermittelt, da dessen Analyse in den fertigen Futtermischungen aufgrund des relativ hohen Lipidgehaltes nicht zuverlässig möglich war. Nach der Behandlung mit siedender Schwefelsäure und siedender Kalilauge beinhaltete der durch Filtration über ein gesintertes Glasfilter gewonnene Rückstand nach wiederholtem Waschen noch Teile der Rohfettfraktion. Die Bestimmung des Rohfaser-Gehaltes in den Mischungen erfolgte daher rechnerisch aus den Anteilen des XF-Gehaltes der Einzelkomponenten.

In den fertig gestellten Futtermischungen wurde der Rohproteingehalt kontrolliert, sowie der Rohfett- als auch der Rohaschegehalt ermittelt. Aus der Summe der Weender Rohnährstoffe XP, XL, XA und XF - bezogen auf die Trockensubstanz - wurden die Stickstofffreien Extraktstoffe (NfE) rechnerisch ermittelt.

Die Ergebnisse der Analysen der Futtermischungen finden sich in Kapitel 3.3.3.

3.5.3 Ganzkörperanalysen

Die gemäß des Probennahmeplanes in bestimmten Zeitintervallen (Nullgruppe; nach 28 bzw. 56 Tagen) anfallenden, das Durchschnittsgewicht der jeweiligen Becken repräsentierenden, Ganzkörper wurden zur Weiterbearbeitung der Tiefkühlung entnommen, über Nacht schonend bei +4°C aufgetaut und anschließend in einem Autoklaven (Fa. Fritsch) 180 Minuten lang bei 110°C autoklaviert. Nach dem Abkühlen wurden die Proben mit einem elektrischen Rührstab zerkleinert und anschließend mit einem Homogenisator (Fa. Heidolph) homogenisiert. Dieses Homogenisat wurde, wie im Kapitel 3.5.2.3 beschrieben, einer Stickstoffanalyse nach dem Verfahren von DUMAS (1990) unterzogen. Der Stickstoffzuwachs einer Gruppe ergab sich nach der Methode der vergleichenden Ganzkörperanalyse aus der Differenz zwischen den Stickstoffmengen nach Ablauf des jeweiligen Versuchsabschnitts abzüglich der Stickstoffmenge der Referenztiere zu Versuchsbeginn (Nullgruppe).

Parallel dazu wurde eine Trockensubstanz- sowie eine Rohascheanalyse durchgeführt. Der Rohfettgehalt ergab sich rechnerisch aus der Summe der auf die Trockensubstanz bezogenen Ergebnisse für den Rohprotein- und den Rohaschegehalt, die von 100 subtrahiert wurden. Der sehr geringe Gehalt an N-freien Extraktstoffen ist dabei in der Rohfettfraktion enthalten.

3.6 Berechnete Parameter

3.6.1 Wachstum, Futteraufnahme, Futteraufwand und Proteinverwertung

Auf der Grundlage von 14tägigen Bestimmungen des Futtermittelsverzehrs und der Lebendmasseentwicklung in den Versuchsbecken konnten in Verbindung mit den Analyseergebnissen von Futter und Ganzkörpern grundlegende Parameter berechnet werden, die Auskunft geben über das Wachstum, den Futtermittelverzehr und die Verwertung des über das Futter aufgenommenen Proteins. Die Kennzahlen der Proteinverwertung sind abhängig von der Futteraufnahme sowie der Proteinqualität, die ihrerseits bestimmt wird durch die Aminosäurezusammensetzung und der Verfügbarkeit der einzelnen Futtermittelsaminosäuren. Folgende Parameter wurden berechnet:

a) Lebendmassezuwachs

Der Lebendmassezuwachs (%) wird wie folgt definiert:

$$Z = \frac{\text{Endgewicht} - \text{Anfangsgewicht}}{\text{Anfangsgewicht}} \cdot 100 \quad (2)$$

b) Spezifische Wachstumsrate („Standard growth rate“)

Die Spezifische Wachstumsrate bezeichnet den prozentualen natürlichen Logarithmus des täglichen Lebendmassezuwachses.

$$\text{SGR} = \frac{(\ln \text{Endgewicht} - \ln \text{Anfangsgewicht}) (g)}{\text{Zahl der Tage}} \cdot 100 \quad (3)$$

c) Tägliche Futteraufnahme in % der durchschnittlichen Lebendmasse (FA)

Diese ist definiert als die relative Futteraufnahme (g TS) pro Tag in bezug zur durchschnittlichen Lebendmasse:

$$\text{FA} = \frac{\text{Futteraufnahme (g)}}{(\text{Anfangsgewicht} + \text{Endgewicht})/2 (g) \cdot \text{Tage}} \cdot 100 \quad (4)$$

d) Futteraufwand

Der Futteraufwand ist definiert als der Futtermittelverzehr (g TS) in bezug zum Lebendmassezuwachs (g FS).

$$\text{FQ} = \frac{\text{Futteraufnahme (g)}}{\text{Lebendmassezuwachs (g)}} \quad (5)$$

e) Proteinwirkungsverhältnis („Protein efficiency ratio“)

Das PER bezeichnet den Lebendmassezuwachs in bezug zur Proteinaufnahme.

$$\text{PER} = \frac{\text{Lebendmassezuwachs (g)}}{\text{Proteinaufnahme (g)}} \quad (6)$$

f) Produktiver Proteinwert (PPW)

Der PPW wird definiert als der prozentuale Proteinzuwachs im Organismus der Versuchstiere in bezug zur aufgenommenen Proteinmenge.

$$\text{PPW} = \frac{\text{Proteinzuwachs (g)}}{\text{Proteinaufnahme (g)}} \cdot 100 \quad (7)$$

g) Physiologischer Nutzwert (PNU)

Der PNU ist definiert als die relative Summe des Proteinzuwachses im Körper der Versuchstiere zuzüglich des Proteinerhaltungsbedarfs in bezug zur Proteinaufnahme durch die Versuchsdät. Der Proteinerhaltungsbedarf von Tilapien wurde mit 1 g/kg LM/d (HALVER 1989) zugrundegelegt.

$$\text{PNU} = \frac{(\text{Proteinzuwachs} + \text{Proteinerhaltungsbedarf}) \text{ (g)}}{\text{Proteinaufnahme (g)}} \cdot 100 \quad (8)$$

3.6.2 Modellberechnungen

Weitergehende Berechnungen wurden mit dem N-Verwertungsmodell nach GEBHARDT (1966) und dessen Weiterentwicklung (LIEBERT & GEBHARDT 1986) durchgeführt. Sie dienen der Bestimmung der Proteinqualität (b), des auf eine tägliche N-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67} standardisierten Physiologischen Nutzwertes (PNU), der Aminosäure-Wirksamkeit (bc⁻¹) sowie der Ermittlung des lebendmasse- und wirksamkeitsabhängigen Aminosäurebedarfs für definierten Proteinansatz.

Nach dem N-Verwertungsmodell beschreibt folgende mathematische Gleichung die Beziehung zwischen N-Aufnahme und N-Retention (N-Deposition + N-Erhaltungsbedarf) bei wachsenden Monogastriern:

$$y = \text{PD}_{\max} T (1 - e^{-bx}) \quad \text{wobei} \quad (9)$$

- y = N-Deposition + N-Erhaltungsbedarf (NEB) (mg N/LM_{kg}^{0,67}/d)
 PD_{max}T = Grenzwert für das maximale theoretische N-Retentionsvermögen (mg N/LM_{kg}^{0,67}/d)
 e = Grundzahl der natürlichen Logarithmen
 b = Proteinqualität (Steigung der N-Verwertungskurve)
 x = N-Aufnahme (mg N/LM_{kg}^{0,67}/d)

$PD_{\max}T$ ist artspezifisch und innerartlich abhängig von Genotyp, Geschlecht, Lebendmasse und Alter und bezeichnet einen genetisch determinierten, theoretischen Grenzwert für das maximale tägliche N-Retentionsvermögen. Es wurden die in einer früheren Arbeit (MOHAMED 2002) mittels eines N-Steigerungsversuchs und vergleichender Ganzkörperanalyse ermittelten Werte für männliche Tiere des gleichen Genotyps für die jeweiligen Versuchszeiträume verwendet:

- 570 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d (28 d)
- 497 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d (56 d)

Diese beinhalteten einen angenommenen NEB von 160 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d. Die Variable b , die die Steigung der N-Verwertungskurve bestimmt, ist unabhängig von der N-Aufnahme und unmittelbar von der Qualität des eingesetzten Futterproteins abhängig, wenn nicht durch andere Nahrungsfaktoren eine Limitierung der Proteinverwertung erfolgt.

Nach Logarithmierung von (9) kann die Proteinqualität b berechnet werden:

$$b = \frac{\ln PD_{\max}T - \ln(PD_{\max}T - y)}{x} \quad (10)$$

Die Ergebnisse der Berechnung von b werden nach GEBHARDT (1980) multipliziert mit dem Faktor 10^6 angegeben.

Der physiologische Nutzwert (PNU) wird ausgehend von GEBHARDT (1966) nach folgender Gleichung (11) definiert:

$$PNU = \frac{PD_{\max}T (1 - e^{-bx})}{x} \cdot 100 \quad (11)$$

Bei der Auswertung der Experimente mit Hilfe des PNU wird eine standardisierte N-Aufnahme von $x=600$ mg N/LM_{kg}^{0,67}/d zugrunde gelegt. Dieser Wert liegt im Bereich einer normalen N-Aufnahme der Tilapien.

Wird entsprechend (10) anstelle der N-Aufnahme (x) über die Konzentration der limitierenden Aminosäure im Futterprotein (c_{LAS} in g/16 g N) die Aufnahme an limitieren-

der Aminosäure einbezogen, ergibt sich eine Möglichkeit (LIEBERT & GEBHARDT 1986; THONG & LIEBERT 2004a, b) für die Bewertung der Wirksamkeit dieser Aminosäure (bc^{-1}_{LAS}):

$$bc^{-1}_{LAS} = \frac{\ln PD_{\max}T - \ln(PD_{\max}T - y)}{16 \cdot x_{LAS}} \quad \text{wobei} \quad (12)$$

x_{LAS} = Aufnahme der limitierenden Aminosäure (mg/LM_{kg}^{0,67}/d)

Zwischen b und c_{LAS} besteht im Limitierungsbereich der betrachteten Aminosäure eine direkte lineare Beziehung, so daß bc^{-1}_{LAS} der regressiv ermittelten Steigung der Funktion entspricht (GEBHARDT 1980; LIEBERT & GEBHARDT 1980) und die Wirksamkeit der jeweiligen Aminosäure im Limitierungsbereich reflektiert. Die berechnete Wirksamkeit ist somit unabhängig von der Aufnahme der Aminosäure. Weist das zu untersuchende Futterprotein keine native Aminosäurelimitanz auf, so kann die Wirksamkeit mittels des Differenzverfahrens (LIEBERT & GEBHARDT 1988a) ermittelt werden (vergl. Kapitel 3.3.1.1).

Ist die Aminosäure-Wirksamkeit (bc^{-1}_{LAS}) einer Futtermischung oder eines Einzelproteins bekannt, so kann durch Umstellen von (12) x_{LAS} beschrieben werden als der Bedarf an der limitierenden Aminosäure definierter Wirksamkeit für eine bestimmte Leistung (LIEBERT & GEBHARDT 1986; THONG & LIEBERT 2004a, b):

$$x_{LAS} = \frac{\ln PD_{\max}T - \ln(PD_{\max}T - y)}{16 \cdot bc^{-1}} \quad (13)$$

3.7 Mathematisch-statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Versuchsdaten erfolgte mittels des Programmpaketes SPSS 10.0 für Windows. Die Daten wurden einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) unterzogen und signifikante Mittelwertdifferenzen auf der Basis von $p \leq 0,05$ mittels eines multiplen Mittelwertsvergleichs (Tukey- bzw. Duncan-Test) ermittelt. Die Abweichung vom Mittelwert wird jeweils als Standardabweichung vom Mittelwert (\pm SD) angegeben. Unterschiedliche Hochbuchstaben innerhalb der Spalten kennzeichnen signifikant verschiedene Mittelwerte. Der DIXON-Ausreißertest (SACHS 1968) diente der biostatistischen Identifikation und Ausgrenzung von stark abweichenden Einzelwerten (Ausreißern) innerhalb der Meßreihen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$.

4 Ergebnisse

4.1 Lysin

Zwei Versuche zur Lysinwirksamkeit sollten dazu dienen, die Größenordnung dieses Parameters in verschiedenen Futtermischungen bzw. in den eingesetzten Testproteinen sowie dessen Variabilität in verschiedenen Sorten eines ausgewählten Futterproteins zu ermitteln. Zu diesem Zweck wurde zum einen eine Lysin-limitierte Basalmischung (B) jeweils mit den Futterproteinen Fischmehl (FM), Sojaextraktionsschrot (S), Sojaproteinkonzentrat (SPC), hitzebehandelten sowie unbehandelten Sojaflakes (SF_{Hitze} ; SF), Rapsextraktionsschrot (R) und Ackerbohnen (Bo) kombiniert. Zum anderen wurde eine weitere Basalmischung mit verschiedenen Erbsensorten (A-F) kombiniert, wobei die Sorte A zusätzlich zwei unterschiedlichen hydrothermischen Behandlungen (vergl. 3.3.3.2) unterzogen wurde. Dies sollte eventuelle Behandlungseffekte auf den Parameter Lysinwirksamkeit erkennen lassen.

4.1.1 Ermittlung der Lysinwirksamkeit in verschiedenen Futtermischungen

Eine Zusammenfassung der Resultate zu Lebendmasseentwicklung, Futterraufnahme sowie Futtermittelverwertung nach Verabreichung der einzelnen Diäten gibt Tab. 4.1. Zusätzlich werden die Ergebnisse einer Fischmehl beinhaltenden Referenzdiät (FM-Lys) aufgeführt, die in allen Folgeexperimenten des Projektes zur Ermittlung der Wirksamkeit weiterer Aminosäuren zum Einsatz kam und Aufschluß über die versuchsübergreifende bzw. anlagenspezifische Variabilität der Parameter geben sollte (zur Zusammensetzung der Diät vergl. Tab. 3.3). Die Erweiterung der Bezeichnung der Diät FM-Lys in Tab. 4.1 beinhaltet nähere Informationen zu den Folgeversuchen (Versuch 2 in Anlage 1 (V2) bzw. in Anlage 2 (V2 A2); Versuch 3 (V3)).

Tab. 4.1: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verfütterung Lysin-limitierter Futtermischungen

Diät	Startgewicht (g)	Endgewicht (g)		SGR (%)		FA (% mittlerer LM)		Futteraufwand	
		MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
B-Lys	12,9	19,3 ^a	1,7	0,7 ^b	0,2	1,0 ^b	0,1	1,38 ^{ab}	0,20
FM-Lys	12,9	52,0 ^{cd}	3,7	2,5 ^{de}	0,1	2,3 ^{de}	0,0	1,07 ^{ab}	0,05
S-Lys	12,9	31,0 ^b	3,9	1,6 ^c	0,2	1,6 ^c	0,1	1,12 ^{ab}	0,08
SPC-Lys	12,8	45,8 ^c	4,8	2,3 ^d	0,2	2,1 ^d	0,1	1,06 ^{ab}	0,05
SF-Lys	12,9	14,2 ^a	1,2	0,2 ^a	0,1	0,5 ^a	0,1	1,99 ^c	0,67
R-Lys	12,9	19,9 ^a	0,5	0,8 ^b	0,0	1,0 ^b	0,1	1,37 ^{ab}	0,08
Bo-Lys	12,9	18,8 ^a	1,4	0,7 ^b	0,1	0,9 ^b	0,1	1,43 ^b	0,10
SF_{Hitze}-Lys	13,4	53,5 ^{cd}	1,9	2,5 ^{de}	0,1	2,2 ^{de}	0,1	1,02 ^a	0,05
FM-Lys (V2)	13,4	64,8 ^e	5,4	2,8 ^{ef}	0,2	2,4 ^{ef}	0,1	1,04 ^a	0,04
FM-Lys (V2 A2)	13,4	69,1 ^e	7,8	2,9 ^f	0,2	2,7 ^f	0,1	1,11 ^{ab}	0,06
FM-Lys (V3)	12,6	59,7 ^{de}	3,4	2,8 ^{ef}	0,1	2,4 ^{ef}	0,1	1,02 ^a	0,05

Diese Referenzdiät (FM-Lys) wies die höchste spezifische Wachstumsrate (SGR) mit 2,5-2,9% im Vergleich zu allen anderen Lysin-limitierten Diäten auf. Bis auf die Werte von 2,5 und 2,9% - letzterer in Kreislaufanlage 2 des Institutes erzielt - unterscheiden sich die Werte nicht signifikant voneinander. Eine vergleichbare durchschnittliche spezifische Wachstumsrate von 2,5% zeigten diejenigen Gruppen, die eine Futtermischung mit hydrothermisch behandelten Sojaflakes (SF_{Hitze}-Lys) erhielten. Gruppen, denen eine Diät mit unbehandelten Sojaflakes (SF-Lys) verabreicht wurde, wiesen mit einer spezifischen Wachstumsrate von 0,2% hingegen ein sehr schwach ausgeprägtes Wachstum auf. Mit einem deutlich verminderten Wachstum reagierten auch die Versuchsgruppen, denen die Basalmischung (B-Lys; 0,7%) sowie die Testdiäten R-Lys (0,8%) und Bo-Lys (0,7%) verabreicht wurde. Die Diät SPC-Lys erzielte mit einer SGR von 2,3% ein mit der Diät SF_{Hitze}-Lys vergleichbares Ergebnis, während das Futter S-Lys mit 1,6% ein signifikant geringeres Wachstum zeigte als die erstgenannten Sojaprotein-haltigen Mischungen. Die gegenüber den Testgruppen erhöhten Wachstumsraten der Versuchsgruppen, denen jeweils eine mit Lysin ergänzte Diät verabreicht wurde, weisen einen positiven Effekt der Supplementierung nach (vergl. Tabellenanhang Tab. A1).

Die Futteraufnahme, ausgewiesen in Prozent der mittleren Lebendmasse, vermittelt ein ähnliches Bild wie das Wachstum der Tiere. Die Referenzdiät (FM-Lys) ist mit einer Futteraufnahme im Bereich von 2,3 - 2,7% homogen, wobei sich der Maximalwert aus Kreislaufanlage 2 mit 2,7% signifikant von den Werten anderer Diäten absetzt. Eine vergleichbare Futteraufnahme von 2,2% wurde wiederum von den Gruppen erzielt, deren Futter behandelte Sojaflakes (SF_{Hitze}-Lys) enthielt. Im Vergleich dazu wurden

unbehandelte Sojaflakes (SF-Lys) mit einer Futteraufnahme von 0,2% stark gemieden. Ebenfalls wenig Akzeptanz fanden die Mischungen B-Lys (1,0%), R-Lys (1,0%) sowie Bo-Lys (0,9%). Die Gruppe S-Lys verzehrte mit 1,6% im Vergleich zu den Gruppen SPC-Lys mit 2,1% und SF_{Hitze}-Lys signifikant weniger Futter. Eine Analyse des Futteraufwandes zeigt trotz nur teilweise signifikanter Unterschiede deutliche Abstufungen zwischen den Diäten. Die Diät SF-Lys kennzeichnet einen mit 1,99 signifikant höheren Futteraufwand als andere Diäten. Die Referenzdiät (FM-Lys) variiert in einem Bereich von 1,02 und 1,11, während sich der Futteraufwand der anderen Sojaprotein enthaltenden Diäten (S-Lys, S_{Hitze}-Lys, SPC-Lys) in einer vergleichbaren Größenordnung von 1,02 und 1,12 bewegt. Deutlich erhöht ist der Futteraufwand bei den Diäten B-Lys (1,38), R-Lys (1,37) und Bo-Lys (1,43).

Ausgewählte Parameter zur Proteinverwertung sind in Tab. 4.2 dargestellt.

Tab. 4.2: Parameter der Proteinverwertung nach Verfütterung der Lysin-limitierten Diäten

Diät	PER (g/g)		PPW (%)		PNU (%)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
B-Lys	2,20 ^{bc}	0,29	26,34 ^{bc}	2,64	57,73 ^a	4,39
FM-Lys	2,79 ^{bcd}	0,12	37,22 ^{bc}	3,11	50,14 ^a	3,16
S-Lys	2,65 ^{bcd}	0,18	34,04 ^{bc}	3,09	52,25 ^a	2,28
SPC-Lys	2,81 ^{cd}	0,14	35,45 ^{bc}	3,80	49,51 ^a	3,43
SF-Lys	0,97 ^a	0,85	6,05 ^a	16,14	74,15 ^b	14,76
R-Lys	2,20 ^{bc}	0,14	27,62 ^{bc}	2,82	56,42 ^a	1,93
Bo-Lys	2,07 ^b	0,14	26,15 ^b	4,35	58,32 ^a	2,03
SF_{Hitze}-Lys	2,94 ^d	0,13	39,52 ^{bc}	0,70	53,25 ^a	0,51
FM-Lys (V2)	2,88 ^{cd}	0,12	39,36 ^{bc}	1,57	51,65 ^a	1,79
FM-Lys (V2 A2)	2,69 ^{bcd}	0,14	38,12 ^{bc}	0,92	49,32 ^a	1,06
FM-Lys (V3)	2,95 ^d	0,16	39,73 ^c	2,29	52,39 ^a	2,90

Die Ergebnisse zum Physiologischen Nutzwert (PNU) fallen sehr homogen aus, wobei lediglich der PNU der Diät SF-Lys mit einem Extremwert von 74,15% signifikant erhöht ist. Die anderen Werte variieren in einem Bereich von 49,32 bis 58,32%. Ein ähnlich homogenes Bild ergibt sich für den produktiven Proteinwert (PPW), wobei wiederum die Diät SF-Lys mit einem Extremwert herausfällt. Zusätzlich zeigt ein Vergleich des PPW der Diäten Bo-Lys (26,15%) und FM-Lys (V3) (39,73%) eine signifikant unterschiedliche Proteinverwertung beider Diäten auf. Die anderen Werte variieren in einem Bereich von 26,34 und 39,52%, wobei tendenziell die Referenzdiät

(FM-Lys) sowie die Diät SF_{Hitze}-Lys die beste Proteinverwertung aufweisen. Ein vergleichbares Bild ergibt sich nach Ermittlung des Proteinwirkungsverhältnisses (PER). Auch hier zeigt die Diät SF-Lys mit 0,97 einen extremen Wert an. Hohe Werte im Bereich von 2,65 bis 2,95 werden durch die Referenzdiät (FM-Lys) sowie die Sojaproteine enthaltenden Diäten S-Lys, SF_{Hitze}-Lys und SPC-Lys erreicht, während die Diäten B-Lys, R-Lys und Bo-Lys niedriger liegende Werte von 2,07 bis 2,20 ausweist. Die Extremwerte, die in Verbindung mit der Diät SF-Lys auftreten, sind als Artefakte eines N-Ansatzes im Bereich des NEB anzusehen (vgl. hierzu die Erläuterungen zu Abb. 4.1).

In Tab. 4.3 sind die Ergebnisse der Kalkulation der Modellparameter für die einzelnen Diäten zusammengefaßt. Es zeigt sich, daß die aufgeführten Parameter in Abhängigkeit von den eingesetzten Diäten Streuungen unterliegen. Dieses gilt im besonderen für N-Aufnahme und N-Ansatz. Erstere variiert in einem Bereich von 61 bis 499 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d, wobei diese Extremwerte den Diäten SF-Lys sowie FM-Lys zuzuordnen sind. Die Referenzdiät (FM-Lys) realisiert hohe N-Aufnahmen im Bereich von 399 bis 499 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d, die z.T. versuchs- sowie anlagenabhängig signifikant unterschiedlich sind. Mittlere bis hohe N-Aufnahmen im Bereich von 250 bis 381 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d werden durch die Sojaprotein enthaltenden Diäten S-Lys, SPC-Lys und SF_{Hitze}-Lys erzielt. Hierbei hebt sich die Diät S-Lys mit einer N-Aufnahme von 251 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d signifikant von den beiden anderen Diäten ab. Geringe N-Aufnahmen von 129 bis 143 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d weisen die Diäten Bo-Lys, B-Lys sowie R-Lys auf, ohne daß signifikante Unterschiede zwischen diesen Diäten erkennbar sind.

Tab. 4.3: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-limitierten Mischungen

Diät	N-Aufnahme		N-Ansatz		Proteinqualität				c _{Lys} (g/16 g N)	bc ⁻¹ _{Lys}	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)				b-Wert		PNU (%) ¹			MW	SD
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD			
B-Lys	132 ^b	16	35 ^b	5	3807 ^c	387	74,2 ^c	1,9	3,13	1215 ^c	124
FM-Lys	399 ^{de}	8	149 ^{de}	15	2436 ^a	160	63,6 ^{ab}	1,8	4,54	537 ^a	35
S-Lys	251 ^c	27	86 ^c	15	2733 ^{ab}	98	66,7 ^b	1,0	4,31	634 ^a	23
SPC-Lys	355 ^d	18	126 ^d	19	2421 ^a	146	63,4 ^a	1,7	4,27	567 ^a	34
SF-Lys	61 ^a	16	5 ^a	10	7051 ^d	1997	81,1 ^d	1,0	4,22	1669 ^d	473
R-Lys	143 ^b	8	40 ^b	6	3590 ^{bc}	83	73,2 ^c	0,5	4,05	886 ^b	21
Bo-Lys	129 ^b	21	34 ^b	11	3897 ^c	423	74,7 ^c	1,8	4,31	904 ^b	98
SF_{Hitze}-Lys	381 ^{de}	24	151 ^{de}	12	2579 ^a	24	65,2 ^{ab}	0,3	4,29	601 ^a	6
FM-Lys (V2)	447 ^f	18	176 ^{ef}	9	2524 ^a	98	64,6 ^{ab}	1,0	4,55	554 ^a	21
FM-Lys (V2 A2)	499 ^g	20	190 ^f	10	2448 ^a	66	63,8 ^{ab}	0,8	4,55	538 ^a	15
FM-Lys (V3)	423 ^{ef}	24	168 ^{ef}	6	2552 ^a	144	64,9 ^{ab}	1,5	4,61	554 ^a	31

¹standardisiert auf eine Stickstoff-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d

Ein vergleichbares Bild ergibt die Analyse des realisierten N-Ansatzes der einzelnen Gruppen. Hohe, größtenteils nicht signifikant unterschiedliche Ansatzwerte im Bereich von 149 bis 190 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d ergeben sich bei der Diät FM-Lys. Ebenfalls in diesen Bereich fällt der N-Ansatzwert von 151 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d nach Diät SF_{Hitze}-Lys, der sich nicht signifikant von 126 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d der Diät SPC-Lys unterscheidet. Deutlich niedriger liegt der N-Ansatz nach Diät S-Lys mit 86 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d. Gering fallen die N-Ansatzwerte nach den Diäten Bo-Lys, B-Lys und R-Lys, die in einem Bereich von 34 bis 40 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d variieren, aus. Die Diät SF-Lys bewirkt mit einem Ansatz von 5 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d nahezu ein Nullwachstum.

Die Proteinqualität, dargestellt als b-Wert, weist eine Gruppe von Diäten (FM-Lys, SF_{Hitze}-Lys und SPC-Lys) aus, deren Werte zwischen 2421 und 2579 variieren. Tendenziell höher liegt der b-Wert von 2733 für die Diät S-Lys. Teilweise signifikant erhöht ist die Proteinqualität der Diäten R-Lys, B-Lys und Bo-Lys mit b-Werten zwischen 3590 und 3897. Ein Extremwert kennzeichnet die Diät SF-Lys (b = 7051). Der Physiologische Nutzwert (PNU), standardisiert auf eine N-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d, spiegelt ein vergleichbares Bild wieder. Eine relativ homogene Gruppe von Diäten bestehend aus FM-Lys, SF_{Hitze}-Lys, SPC-Lys und S-Lys weist Werte zwischen 63,4 (SPC-Lys) und 66,7% (S-Lys) aus, wobei sich die Extremwerte signifikant voneinander unterscheiden. Signifikant höhere Werte zwischen 73,2 und 74,7% ergeben die restlichen Diäten R-Lys, B-Lys und Bo-Lys. Ein maximaler Wert von 81,1% zeigt sich nach Verabreichung der Diät SF-Lys.

Die Werte für die Lysinwirksamkeit, berechnet als Quotient aus b-Wert und Lysin-Konzentration in der jeweiligen Diät, gruppiert ebenfalls eine Reihe von Diäten (FM-Lys, SF_{Hitze}-Lys, SPC-Lys und S-Lys) zueinander, deren Lysinwirksamkeit im Bereich von 537 und 634 variiert. Die Werte für die Referenzdiät FM-Lys sind dabei anlagen- wie auch versuchsunabhängig nahezu identisch in einem Bereich von 537 und 554. Im Vergleich dazu liegen die Ergebnisse zur Lysinwirksamkeit bei den Sojaprotein enthaltenden Diäten tendenziell höher, was im besonderen für die Diäten SF_{Hitze}-Lys (601) und S-Lys (634) gilt. Als Extremwert ist die Lysinwirksamkeit von 1669 anzusprechen, der von der Diät SF-Lys erzielt wird. Parallel dazu wird ein ebenfalls sehr hoher Wert von 1215 von der Basaldiät (B-Lys) erreicht. Hohe Werte für die Lysinwirksamkeit zeigen auch die Diäten R-Lys und Bo-Lys mit jeweils 886 bzw. 904.

Abb. 4.1 stellt die Ergebnisse einer "broken-line"-Analyse dar, die mit dem Ziel durchgeführt wurde, eine Proteinansatzhöhe zu finden, die als Mindestwert zu realisieren ist und damit als Grundlage einer Wirksamkeitsbestimmung dienen kann, um eine valide Bedarfsableitung zu rechtfertigen. Die Werte der Referenzdiät (FM-Lys) sind zu einem Wert zusammengefaßt worden. Es zeigt sich, daß diejenigen Diäten, die einen N-Ansatz von $>55 \text{ mg N/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ erzielen, für eine Lysin-Bedarfsableitung herangezogen werden können. Dazu zählen die Diäten FM-Lys, SF_{Hitze}-Lys, SPC-Lys sowie S-Lys. Alle anderen Messungen der Lysin-Wirksamkeit basieren auf einem zu geringen N-Ansatz, der im Bereich des N-Erhaltungsbedarfs liegt und können nicht als tatsächlicher Befund zur Höhe der Lysinwirksamkeit gewertet werden. Sie kommen somit für eine Einbeziehung bei der Bedarfsableitung nicht in Betracht. Unter dem Ausschluß dieser Diäten ergibt eine Varianzanalyse der mittleren Meßwerte zur Lysinwirksamkeit signifikante Unterschiede zwischen den Diäten FM-Lys und S-Lys, nicht aber zu den übrigen Diäten.

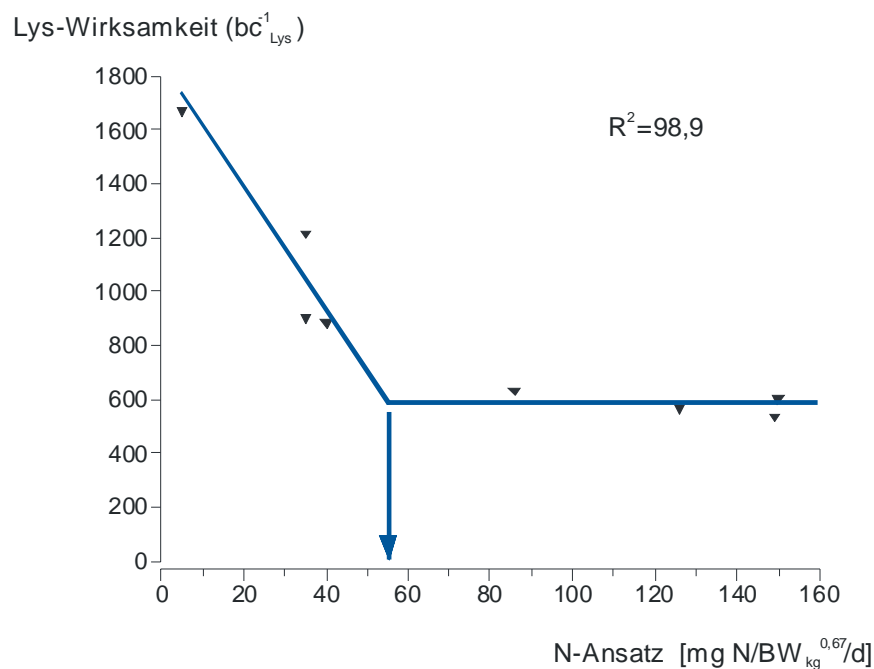


Abb. 4.1: Abschätzung eines Grenzbereiches für den erforderlichen N-Ansatz mittels "broken-line"-Analyse

Von einer Anwendung des Differenzverfahrens zur Bestimmung der Lysinwirksamkeit der einzelnen Futterproteine wurde aufgrund des unter dem Grenzwert liegenden N-Ansatzes nach Verabreichung der Basaldiät (B-Lys) Abstand genommen.

4.1.2 Sortenabhängige Variabilität der Lysinwirksamkeit innerhalb einer Futtermischung

In Tab. 4.4 sind Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung der erbsenhaltigen Futtermischungen aufgeführt.

Tab. 4.4: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verfütterung Lysin-limitierter erbsenhaltiger Futtermischungen

Diät	Startgewicht (g)	Endgewicht (g)		SGR (%)		FA (% mittlerer LM)		Futteraufwand	
		MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
BE-Lys	11,0	24,8 ^a	1,2	1,5 ^a	0,1	1,6 ^a	0,0	1,19 ^a	0,05
EA-Lys	11,0	28,7 ^{ab}	3,4	1,7 ^{ab}	0,2	1,9 ^a	0,1	1,19 ^a	0,14
EA1-Lys	11,0	38,2 ^{bc}	4,9	2,2 ^{bc}	0,2	2,0 ^{ab}	0,1	1,02 ^a	0,03
EA2-Lys	10,9	43,8 ^c	6,0	2,5 ^c	0,2	2,3 ^b	0,2	1,08 ^a	0,07
EB-Lys	11,0	27,8 ^{ab}	3,4	1,6 ^a	0,2	1,8 ^a	0,2	1,18 ^a	0,13
EC-Lys	11,0	30,6 ^{ab}	2,0	1,8 ^{ab}	0,1	1,8 ^a	0,1	1,08 ^a	0,07
ED-Lys	10,9	31,3 ^{ab}	1,8	1,9 ^{ab}	0,1	1,8 ^a	0,0	1,06 ^a	0,04
EE-Lys	11,0	29,2 ^{ab}	5,0	1,7 ^{ab}	0,3	1,8 ^a	0,2	1,13 ^a	0,07
EF-Lys	11,0	28,0 ^{ab}	1,7	1,7 ^{ab}	0,1	1,7 ^a	0,1	1,12 ^a	0,07

Ersterer Parameter, repräsentiert durch die spezifische Wachstumsrate (SGR), zeigt ein homogenes Wachstum eines Großteils der Gruppen an, das im Bereich einer SGR von 1,5 bis 1,9% variiert. Lediglich die beiden Diäten EA1-Lys und EA2-Lys, die hydrothermisch behandelte Erbsen enthalten, weisen spezifische Wachstumsraten von 2,2 bzw. 2,5% auf. Letzterer Wert ist gegenüber der Mischung EA-Lys, die die unbehandelte Erbsensorte A beinhaltet, signifikant erhöht. Die gegenüber den Testgruppen erhöhten Wachstumsraten nach der Supplementierung von Lysin unterstreichen die limitierende Rolle dieser Aminosäure in den Testdiäten (vergl. Tabellenanhang Tab. A4).

Die Futteraufnahme in Prozent der mittleren Lebendmasse spiegelt ähnliche Verhältnisse wie bei der Analyse der SGR wider: Die aus unbehandelten Erbsen bestehenden Mischungen zeigen Futteraufnahmen von 1,6 bis 1,9%, während die Diäten EA1-Lys und EA2-Lys erhöhte Werte von 2,0 bzw. 2,3% aufweisen. Letzterer Wert steht für eine signifikant höhere Futteraufnahme im Vergleich mit sämtlichen anderen Diäten. Der Futteraufwand schwankt in einem Bereich von 1,02 und 1,19, ohne klar erkennbare Tendenzen.

Tab. 4.5 verschafft einen Überblick über die Ergebnisse zu den einzelnen Parametern der Proteinverwertung.

Tab. 4.5: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung Lysin-limitierter erbsenhaltiger Futtermischungen

Diät	PER (g/g)		PPW (%)		PNU (%)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
BE-Lys	2,49 ^a	0,11	30,75 ^a	0,20	48,83 ^a	0,45
EA-Lys	2,59 ^a	0,28	35,05 ^{ab}	3,76	51,35 ^a	3,98
EA1-Lys	2,98 ^a	0,10	41,18 ^b	1,02	56,43 ^a	1,67
EA2-Lys	2,85 ^a	0,17	40,36 ^b	2,42	53,78 ^a	2,91
EB-Lys	2,56 ^a	0,26	36,59 ^{ab}	4,61	53,39 ^a	5,17
EC-Lys	2,78 ^a	0,18	39,25 ^b	2,30	55,82 ^a	2,52
ED-Lys	2,83 ^a	0,11	39,15 ^b	0,55	55,68 ^a	0,88
EE-Lys	2,64 ^a	0,17	37,63 ^{ab}	0,94	54,39 ^a	1,10
EF-Lys	2,68 ^a	0,17	37,75 ^{ab}	2,97	55,03 ^a	3,47

Das Proteinwirkungsverhältnis (PER) weist auf nicht signifikante Unterschiede in der Proteinverwertung im Bereich von 2,49 und 2,98 hin. Der Produktive Proteinwert (PPW) schwankt zwischen 35,05 und 41,18%, wobei die Basalmischung (BE-Lys) einen deutlich geringeren Wert von 30,75% zeigt. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen der Basalmischung (BE-Lys) und den Diäten EA1-Lys, EA2-Lys, EC-Lys sowie ED-Lys. Der Physiologische Nutzwert (PNU) schwankt zwischen 48,83 und 56,43%, ohne daß signifikante Unterschiede erkennbar sind. Tendenziell zeigt sich, daß die Diät BE-Lys einen im Vergleich zu den anderen Diäten niedrigeren Physiologischen Nutzwert aufweist.

Tab. 4.6 gibt Auskunft über die ermittelten Modellparameter in Abhängigkeit von N-Aufnahme und N-Ansatz der einzelnen Mischungen.

Die niedrigste N-Aufnahme wird nach Verabreichung der Diät BE-Lys mit 235 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d realisiert. Die N-Aufnahme bei den unbehandelten Erbsendiäten reicht von 253 bis 271 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d, während die N-Aufnahme bei den Diäten EA1 und EA2 mit 310 und 365 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d höher ausfällt. Letzter Wert ist signifikant höher als bei den unbehandelten Diäten.

Tab. 4.6: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-limitierten erbsenhaltigen Mischungen

Diät	N-Aufnahme		N-Ansatz		Proteinqualität				c _{Lys} (g/16 g N)	bc ⁻¹ _{Lys}	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)				b-Wert		PNU (%) ¹			MW	SD
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD			
BE-Lys	235 ^a	6	72 ^a	1	2684 ^a	45	66,3 ^a	0,4	3,76	714 ^b	12
EA-Lys	270 ^{ab}	19	95 ^{ab}	13	2670 ^a	155	66,1 ^a	1,5	4,62	578 ^a	34
EA1-Lys	310 ^{bc}	29	128 ^{bc}	11	2799 ^a	107	67,4 ^a	1,0	4,62	606 ^a	23
EA2-Lys	365 ^c	36	147 ^c	15	2649 ^a	142	65,9 ^a	1,4	4,66	569 ^a	31
EB-Lys	263 ^{ab}	38	96 ^{ab}	19	2787 ^a	262	67,1 ^a	2,7	4,48	622 ^a	58
EC-Lys	269 ^{ab}	10	106 ^{ab}	8	2844 ^a	102	67,8 ^a	0,9	4,56	623 ^a	22
ED-Lys	271 ^{ab}	10	106 ^{ab}	3	2829 ^a	62	67,7 ^a	0,6	4,58	618 ^a	14
EE-Lys	265 ^{ab}	38	100 ^{ab}	16	2813 ^a	161	67,5 ^a	1,4	4,59	613 ^a	35
EF-Lys	253 ^{ab}	15	96 ^{ab}	9	2857 ^a	161	67,9 ^a	1,5	4,70	608 ^a	34

¹standardisiert auf 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d

Der N-Ansatz variiert im Bereich von 72 und 147 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d und liegt somit höher als der im Abschnitt 4.1.1 bestimmte Grenzwert von 55 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d. Den geringsten N-Ansatz verzeichnet die Diät BE mit 72 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d. Die Ansatzwerte der Mischungen, die die unbehandelten Erbsenschrote enthalten, umfassen einen Bereich von 95 bis 106 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d. Darüber liegt der N-Ansatz, der nach den Diäten EA1-Lys und EA2-Lys mit 128 bzw. 147 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d erzielt wurde. Letzterer Wert ist signifikant höher als der N-Ansatz nach den Diäten, die unbehandelte Erbsenschrote enthalten. Die Proteinqualität, dargestellt durch den b-Wert, variiert zwischen 2649 und 2857, während der PNU Werte zwischen 65,9 und 67,9% annimmt. Die biostatistischen Ergebnisse zu beiden Parametern lassen keine Rückschlüsse auf Unterschiede zwischen den Diäten zu.

Die Lysinwirksamkeit fällt für die Basalmischung (BE-Lys) mit 714 signifikant höher aus als die aller erbsenhaltigen Mischungen, deren Lysinwirksamkeit zwischen 569 und 623 schwankt. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den letztgenannten Diäten, so daß auf der Grundlage einer vergleichbaren Zulage der verschiedenen Erbsenschrote zur Basalmischung ein Einfluß der Sorte bzw. einer kurzzeitigen hydrothermischen Behandlung im angegebenen Temperaturbereich auf die Lysinwirksamkeit ausgeschlossen werden kann.

Nach Durchführung des Differenzverfahrens ergeben sich Lysinwirksamkeitswerte für die einzelnen Erbsensorten, die in einem weiten Bereich von 251 ± 46 (Erbsen A) und

515 ± 14 (Erbse B) variieren. Die Standardabweichung der einzelnen berechneten Lysinwirksamkeit variiert in einem Bereich von 3 bis 34% mit einem mittleren Wert von 18,4%. Die mittlere Lysinwirksamkeit aller betrachteten Erbsenschrote liegt bei 389 ± 88 und ist somit durch eine hohe Variabilität charakterisiert.

4.1.3 Ableitungen zum Lysinbedarf

Das berechnete Lysinbedarfsspektrum, das sich in Abhängigkeit des gewünschten Proteinansatzes ergibt und die in den Futtermischungen vorgefundene Lysinwirksamkeit einschließt, ist in Tab. 4.7 aufgeführt.

Tab. 4.7: Kalkulierter Lysinbedarf in Abhängigkeit von Proteinansatz und Lysinwirksamkeit der eingesetzten Futtermischung

Proteinansatz (mg/d)⁽¹⁾	241			200			158			116		
Ausschöpfung von PD_{max}T (%)	90			80			70			60		
bc⁻¹_{Lys}	500	600	700	500	600	700	500	600	700	500	600	700
Lysinbedarf:												
mg/LM_{kg}^{0,67}/d	288	240	206	201	168	144	150	125	107	115	95	82
(mg/d)⁽¹⁾	39	32	28	27	23	19	20	17	14	15	13	11
% im Futter^{(1) (2)}	2,58	2,15	1,84	1,80	1,50	1,29	1,35	1,12	0,96	1,03	0,86	0,73
% im Futter^{(1) (3)}	3,09	2,58	2,21	2,16	1,80	1,54	1,62	1,35	1,16	1,23	1,03	0,88

⁽¹⁾für eine Tilapie mit einer Lebendmasse von 50g

⁽²⁾bei einer Futteraufnahme von 3,0% der Lebendmasse pro Tag

⁽³⁾bei einer Futteraufnahme von 2,5% der Lebendmasse pro Tag

Bei einem hohen Ausschöpfungsgrad des maximalen theoretischen Proteinretentionsvermögens (PD_{max}T) ergibt sich ein hoher Lysinbedarf, während ein niedriger Proteinansatz mit einem niedrigen Lysinbedarf einhergeht. In Abhängigkeit von der Lysinwirksamkeit der eingesetzten Futtermischung verändert sich der Lysinbedarf innerhalb einer angestrebten Leistung, wobei eine hohe Wirksamkeit verringernd auf den Lysinbedarf und umgekehrt eine niedrige Wirksamkeit erhöhend auf den Lysinbedarf wirkt. In einem hohen Leistungsbereich von 90% Ausschöpfung ist ein Lysinbedarf von 206 bis 288 mg/LM_{kg}^{0,67}/d anzusetzen, während in einem mittleren von 60% ein Lysinbedarf von 82 bis 115 mg/LM_{kg}^{0,67}/d vorliegt. Bezogen auf eine Tilapie mit einer Lebendmasse von 50g entspricht dies einer notwendigen Lysinzufuhr von 28 bis 39 mg/d bzw. 11 bis 15 mg/d. In Abhängigkeit von der realisierten Futteraufnahme erhöht bzw. vermindert

sich der im Futter erforderliche Lysingehalt, wobei eine höhere Futterraufnahme eine geringere Lysin­konzentration im Futter notwendig werden läßt, um einen vergleichbaren Proteinansatz zu erzielen. Bei einer täglichen Futterraufnahme von 3% der Lebendmasse beträgt die erforderliche Lysin­konzentration in Abhängigkeit von der Lysin­wirksamkeit 1,84 bis 2,58%, ein hohes Leistungs­niveau (90% Ausschöpfung) vorausgesetzt. Nehmen die Tiere hingegen täglich lediglich 2,5% von der Lebendmasse auf, steigt die Lysin­bedarfs­konzentration auf Werte zwischen 2,21 und 3,09%. Ein deutlich geringerer Lysin­bedarf ergibt sich in einem mittleren Leistungs­bereich von 60% Ausschöpfung. Bei einer täglichen Futterraufnahme von 3% liegt die im Futter erforderliche Lysin­menge im Bereich von 0,73 bis 1,03%. Eine Reduktion der Futterraufnahme um 0,5% erhöht die notwendige Lysin­konzentration auf 0,88 bis 1,23%, jeweils in Abhängigkeit von der Lysin­wirksamkeit der Diät.

4.2 Methionin/Cystin

Zur Ermittlung der Wirksamkeit der schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystin wurde ein Experiment mit 5 verschiedenen Methionin/Cystin-limitierten Diäten durchgeführt, die zum einen als solitäre Proteinquelle jeweils Sojaextraktionsschrot (Soja-Met), Sojaproteinkonzentrat (SPC-Met) sowie hydrothermisch behandelte Sojafakes (SF_{Hitze}-Met) enthielten und zum anderen eine Mischung aus Sojaextraktionsschrot und Fischmehl (FM-Met) bzw. Rapsextraktionsschrot (R-Met) umfaßten.

4.2.1 Ermittlung der Methionin/Cystin-Wirksamkeit in verschiedenen Futtermischungen

Tab. 4.8 vermittelt eine Übersicht über die Lebendmasseentwicklung, die Futterraufnahme sowie die Futtermittelnutzung nach Verabreichung der entsprechenden Diäten. Die spezifische Wachstumsrate (SGR) zeigt Werte im Bereich von 2,1 bis 3,4%. Die SGR von 3,4%, die nach Diät FM-Met realisiert wird, ist signifikant höher als die anderer Gruppen. Die Diät SPC-Met erreicht mit 2,6% die zweithöchste SGR, die sich signifikant von der Wachstumsrate der Diät SF_{Hitze}-Met mit 2,1% unterscheidet, nicht aber von der Diät Soja-Met (2,5%). Die Diät R-Met bewirkt gemeinsam mit der Diät SF_{Hitze}-Met die geringste SGR von 2,1%. Eine gegenüber den Testgruppen festzustellende

Erhöhung der Wachstumsrate durch eine Methionin-ergänzte Diät bleibt auf die Diäten SPC-Met, Soja-Met sowie SF_{Hitze}-Met beschränkt (vergl. Tabellenanhang Tab. A7).

Die signifikant höchste Futteraufnahme mit 2,9% der mittleren Lebendmasse wird mit Diät FM-Met erreicht. Die beiden Diäten Soja-Met und SPC-Met werden mit 2,4% in vergleichbarer Größenordnung aufgenommen, während die Diät SF_{Hitze}-Met mit 1,9% signifikant schwächer verzehrt wird. Die Diät R-Met erzielt mit 2,3% eine mit den Diäten Soja-Met, SPC-Met und SF_{Hitze}-Met vergleichbare Verzehrtrate. Der signifikant höchste Futteraufwand von 1,21 ergibt sich nach Verabreichung der Diät R-Met. Der Futteraufwand der Diät Soja-Met von 1,13 liegt signifikant höher als der der Diät SF_{Hitze}-Met (1,05). Im Bereich dieser Werte findet sich der Futteraufwand nach den Diäten SPC-Met (1,11) und FM-Met (1,09).

Tab. 4.8: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verfütterung Methionin/Cystin-limitierter Futtermischungen

Diät	Startgewicht (g)	Endgewicht (g)		SGR (%)		FA (% mittlerer LM)		Futteraufwand	
		MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Soja-Met	13,4	55,1 ^{ab}	5,4	2,5 ^{ab}	0,2	2,4 ^b	0,1	1,13 ^b	0,01
SPC-Met	13,4	56,8 ^b	2,7	2,6 ^b	0,1	2,4 ^b	0,1	1,11 ^{ab}	0,03
SF_{Hitze}-Met	13,4	42,8 ^a	7,4	2,1 ^a	0,3	1,9 ^a	0,2	1,05 ^a	0,04
FM-Met	13,4	89,0 ^c	2,5	3,4 ^c	0,0	2,9 ^c	0,0	1,09 ^{ab}	0,03
R-Met	13,4	43,5 ^a	9,2	2,1 ^a	0,4	2,3 ^{ab}	0,3	1,21 ^c	0,04

Tab. 4.9 faßt einige Parameter zur Proteinverwertung zusammen.

Tab. 4.9: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Methionin/Cystin-limitierten Diäten

Diät	PER (g/g)		PPW (%)		PNU (%)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Soja-Met	2,68 ^b	0,02	38,61 ^{ab}	0,21	51,00 ^a	0,74
SPC-Met	2,73 ^{bc}	0,08	38,26 ^{ab}	1,28	50,63 ^a	1,69
SF_{Hitze}-Met	2,85 ^c	0,10	40,41 ^{bc}	0,87	56,01 ^b	2,12
FM-Met	2,74 ^{bc}	0,07	42,11 ^c	0,86	52,52 ^a	1,01
R-Met	2,50 ^a	0,08	37,57 ^a	1,61	51,14 ^a	0,72

Das niedrigste Proteinwirkungsverhältnis (PER) erzielt mit 2,50 die Mischung R-Met, während das höchste mit 2,85 für die Diät SF_{Hitze}-Met vorliegt. Ein PER in vergleichbarer Größenordnung wie die letztgenannte Diät erzielen die Diäten SPC-Met und

FM-Met mit 2,73 bzw. 2,74, einen darunter liegenden Wert zeigt die Diät Soja-Met mit 2,68. Der Produktive Proteinwert (PPW) weist die Proteinverwertung der Mischung FM-Met mit 42,11% als signifikant höher aus als die anderer Diäten mit Ausnahme der Diät SF_{Hitze}-Met (40,41%). Geringer ist der PPW der restlichen Diäten, der in einem engen Intervall von 37,57 (R-Met) und 38,61% (Soja-Met) variiert. Der Physiologische Nutzwert (PNU) zeigt ein wenig differenziertes Bild. Während der PNU der Diät SF_{Hitze}-Met mit 56,01% signifikant höher ausfällt als die anderer Diäten, variieren deren PNU-Werte ohne signifikante Unterschiede in dem engen Bereich zwischen 50,63% (SPC-Met) und 52,52% (FM-Met).

Die kalkulierten Modellparameter zu den Methionin/Cystin-limitierten Mischungen sind in Tab. 4.10 aufgeführt.

Tab. 4.10: Berechnung der Modellparameter für die Methionin/Cystin-limitierten Mischungen

Diät	N-Aufnahme		N-Ansatz		Proteinqualität				C _{M+C} (g/16 g N)	Met-Anteil (%)	bc ⁻¹ _{M+C}	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)				b-Wert		PNU (%) ¹				MW	SD
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD				
Soja-Met	425 ^b	34	164 ^a	13	2490 ^a	27	64,2 ^a	0,3	3,51	54,6	710 ^b	8
SPC-Met	429 ^b	22	164 ^a	6	2464 ^a	82	63,9 ^a	0,9	3,77	57,8	654 ^a	22
SF_{Hitze}-Met	320 ^a	54	129 ^a	21	2755 ^b	130	66,9 ^b	1,3	3,69	57,9	747 ^b	35
FM-Met²	577 ^c	6	243 ^b	4	2886 ^b	84	68,2 ^b	0,7	3,66	63,7	----	----
R-Met²	368 ^{ab}	61	139 ^a	29	2523 ^a	28	64,6 ^a	0,3	4,22	52,7	----	----

⁽¹⁾standardisiert auf eine N-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d

⁽²⁾kein Nachweis einer Aminosäure-Limitation

Die signifikant höchste N-Aufnahme wird bei Verabreichung der Futtermischung FM-Met mit 577 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d realisiert. Die Diäten Soja-Met und SPC-Met erreichen eine N-Aufnahme von 425 bzw. 429 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d. Es zeigt sich kein signifikanter Unterschied zur Diät R-Met mit 368 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d, wohl aber zum niedrigsten Wert von 320 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d, der als Reaktion auf die Diät SF_{Hitze}-Met bestimmt wurde. Den signifikant höchsten N-Ansatz mit 243 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d erzielt die Diät FM-Met. Im Vergleich dazu schwankt der N-Ansatz der übrigen Diäten ohne signifikante Differenzen zwischen 129 (SF_{Hitze}-Met) und 164 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d (Soja-Met), wobei tendenziell der N-Ansatz der letztgenannten Diät gemeinsam mit der Diät SPC-Met (164 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d) höher ausfällt. Die Bewertung der Proteinqualität mittels des b-Wertes

sowie des Physiologischen Nutzwertes (PNU) deutet auf zwei signifikant voneinander zu trennende Gruppen von Diäten hin. Zum einen ergeben sich hohe Werte von 2755 und 2886 (b-Werte) bzw. 66,9% und 68,2% (PNU) für die Diäten SF_{Hitze}-Met und FM-Met, zum anderen niedrigere Werte von 2464 (SPC-Met) bis 2523 (R-Met) bzw. 63,9% und 64,6% für die übrigen Diäten. Der Parameter für die Wirksamkeit der schwefelhaltigen Aminosäuren (bc^{-1}_{M+C}) in den untersuchten Diäten variiert in einem Bereich von 654 und 747. Ein Vergleich der Wachstumsdaten der Diäten R-Met bzw. FM-Met mit den im Tabellenanhang (Tab. A7) aufgeführten korrespondierenden Methionin-supplementierten Gruppen weist auf keine Limitation der schwefelhaltigen Aminosäuren hin, so daß sich diese Diäten einer Berechnung von bc^{-1}_{M+C} entziehen. Aus diesem Grund beschränkt sich die Gruppe der hier weiter betrachteten und einer Bedarfsableitung zugrundegelegten Wirksamkeit schwefelhaltiger Aminosäuren auf die Diäten SPC-Met, Soja-Met und SF_{Hitze}-Met. Diese differenziert sich in hohe Werte von 710 (Soja-Met) und 747 (SF_{Hitze}-Met), sowie einen signifikant geringeren Wert von 654 (SPC-Met).

4.2.2 Ableitungen zum Methionin/Cystin-Bedarf

Der berechnete Bedarfsbereich, der sich in Abhängigkeit des gewünschten Proteinansatzes ergibt und die in den Futtermischungen vorgefundene Wirksamkeit der schwefelhaltigen Aminosäuren der getesteten Sojaproteine einschließt, ist in Tab. 4.11 aufgeführt.

Tab. 4.11: Kalkulierter Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren in Abhängigkeit von Proteinansatz und Met/Cys-Wirksamkeit der eingesetzten Futtermischung

Proteinansatz (mg/d)⁽¹⁾	241			200			158			116		
Ausschöpfung von PD_{max}T (%)	90			80			70			60		
bc^{-1}_{M+C}	600	700	800	600	700	800	600	700	800	600	700	800
Bedarf an schwefelhaltigen AS:												
mg/LM_{kg}^{0,67}/d	240	206	180	168	144	126	125	107	94	95	82	72
(mg/d)⁽¹⁾	32	28	24	23	19	17	17	14	13	13	11	10
% im Futter^{(1) (2)}	2,15	1,84	1,61	1,50	1,29	1,13	1,12	0,96	0,84	0,86	0,73	0,64
% im Futter^{(1) (3)}	2,58	2,21	1,93	1,80	1,54	1,35	1,35	1,16	1,01	1,03	0,88	0,77

⁽¹⁾für eine Tilapie mit einer Lebendmasse von 50g

⁽²⁾bei einer Futteraufnahme von 3,0% der Lebendmasse pro Tag

⁽³⁾bei einer Futteraufnahme von 2,5% der Lebendmasse pro Tag

Hohe Ausschöpfungsgrade des maximalen theoretischen Proteinretentionsvermögens ($PD_{\max T}$) gehen generell einher mit einem erhöhten Bedarf an den schwefelhaltigen Aminosäuren, während ein niedriger Proteinansatz mit einem niedrigen Bedarf korrespondiert. In Abhängigkeit von der Wirksamkeit von Methionin/Cystin in der eingesetzten Futtermischung verändert sich der Bedarf an den schwefelhaltigen Aminosäuren markant. Für eine angestrebte Leistung senkt eine hohe Wirksamkeit schwefelhaltiger Aminosäuren den abgeleiteten Bedarf an diesen Aminosäuren deutlich und umgekehrt. In einem hohen Leistungsbereich von 90% Ausschöpfung ist je nach Wirksamkeit ein Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren von 180 bis 240 $\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ anzusetzen, während in einem mittleren Bereich (60% Ausschöpfung) ein Bedarf von 72 bis 95 $\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ abgeleitet wird. Bezogen auf eine Tilapie mit einer Lebendmasse von 50g entspricht dieses einer Zufuhr an schwefelhaltigen Aminosäuren von 24 bis 32 mg/d bzw. 10 bis 13 mg/d . In Abhängigkeit von der realisierten Futteraufnahme erhöht bzw. vermindert sich der im Futter erforderliche Gehalt an schwefelhaltigen Aminosäuren dergestalt, daß eine höhere Futteraufnahme eine geringere Konzentration dieser Aminosäuren im Futter notwendig werden läßt, wenn ein vergleichbarer Proteinansatz erzielt werden soll. Bei einer täglichen Futteraufnahme von 3% der Lebendmasse beträgt der wirksamkeitsabhängige Bedarf 1,61 bis 2,15% auf einem hohen Leistungsniveau (90% Ausschöpfung). Nehmen die Tiere hingegen täglich 2,5% von der Lebendmasse auf, steigt die Bedarfskonzentration an schwefelhaltigen Aminosäuren auf Werte zwischen 1,93 und 2,58%. Ein deutlicher Abfall ergibt sich in einem mittleren Leistungsbereich (60% Ausschöpfung). Bei einer täglichen Futteraufnahme von 3% liegt die im Futter erforderliche Konzentration an schwefelhaltigen Aminosäuren im Bereich von 0,64 bis 0,86%. Eine Reduktion der Futteraufnahme um 0,5% erhöht die notwendige Bereitstellung mit dem Futter auf 0,77 bis 1,03%, jeweils in Abhängigkeit von der Wirksamkeit der schwefelhaltigen Aminosäuren in der Proteinquelle. Die abgeleiteten Bedarfswerte beziehen sich auf den in Tab. 4.10 genannten Methionin- bzw. den korrespondierenden Cystinanteil an den schwefelhaltigen Aminosäuren.

4.3 Threonin

Zum Zweck der Ermittlung der Größenordnung der Threoninwirksamkeit in Futtermischungen wurde ein Wachstumsversuch mit 6 Threonin-limitierten Diäten durchgeführt, die sowohl eine Basaldiät (B-Thr) umfaßten, wie auch eine Kombination aus dieser Basalmischung mit den Futterproteinen Fischmehl (FM-Thr), Sojaextraktionsschrot (S-Thr), Sojaproteinkonzentrat (SPC-Thr), hydrothermisch behandelten Sojafakes (SF_{Hitze}-Thr) sowie Rapsextraktionsschrot (R-Thr).

4.3.1 Ermittlung der Threoninwirksamkeit in verschiedenen Futtermischungen

Einen Überblick zur Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme sowie zur Futterverwertung gewährt Tab. 4.12. Die spezifische Wachstumsrate (SGR) nimmt ein weites Spektrum von Werten zwischen 2,3 und 4,2% an. Hohe Wachstumsraten realisieren die Diäten FM-Thr und SPC-Thr mit jeweils 4,2 bzw. 3,7%. Die beiden anderen Sojaprotein-haltigen Diäten S-Thr und SF_{Hitze}-Thr folgen mit einer SGR von 3,4 und 3,1%. Das geringste Wachstum weisen die Gruppen B-Thr und R-Thr mit jeweils 2,6 bzw. 2,3% auf. Die gegenüber den Testgruppen erhöhten Wachstumsraten der Kontrollgruppen, denen jeweils eine mit Threonin ergänzte Kontrolldiät verabreicht wurde, weisen einen positiven Effekt der Supplementierung nach (vergl. Tabellenanhang Tab. A10).

Tab. 4.12: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verfütterung Threonin-limitierter Futtermischungen

Diät	Startgewicht		Endgewicht (g)		SGR (%)		FA (% mittlerer LM)		Futteraufwand	
	(g)	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	
B-Thr	12,5	52,4 ^a	5,0	2,6 ^{ab}	0,2	2,1 ^{ab}	0,1	0,95 ^a	0,02	
FM-Thr	12,6	130,2 ^d	1,9	4,2 ^d	0,0	2,8 ^d	0,1	0,95 ^a	0,03	
S-Thr	12,6	87,4 ^{bc}	14,9	3,4 ^c	0,3	2,5 ^{cd}	0,2	0,95 ^a	0,02	
SPC-Thr	12,6	100,1 ^c	13,7	3,7 ^{cd}	0,3	2,6 ^{cd}	0,1	0,95 ^a	0,01	
SF_{Hitze}-Thr	12,5	71,0 ^{ab}	17,1	3,1 ^{bc}	0,4	2,3 ^{bc}	0,2	0,95 ^a	0,01	
R-Thr	12,5	46,4 ^a	8,2	2,3 ^a	0,3	1,9 ^a	0,2	0,96 ^a	0,02	

Die höchste Futteraufnahme wurde in diesem Komplex für die am schnellsten wachsende Gruppe mit der Diät FM-Thr mit 2,8% von der mittleren Lebendmasse bestimmt. Es folgen die Sojaprotein-haltigen Diäten, die eine Futteraufnahme zwischen 2,6 (SPC-Thr) und 2,3% (SF_{Hitze}-Thr) bewirken. Darunter liegen die Futteraufnahmen der

Gruppen B-Thr (2,1%) und R-Thr (1,9%). Der resultierende Futteraufwand liegt für sämtliche Gruppen einheitlich bei 0,95 bzw. 0,96.

Die Proteinverwertung ist in Tab. 4.13 anhand der Parameter Proteinwirkungsverhältnis (PER), Produktivem Proteinwert (PPW) und Physiologischem Nutzwert (PNU) dargestellt.

Tab. 4.13: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Threoninlimitierten Diäten

Diät	PER (g/g)		PPW (%)		PNU (%)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
B-Thr	3,10 ^{ab}	0,07	40,38 ^a	1,00	54,55 ^a	1,54
FM-Thr	3,18 ^{ab}	0,09	46,99 ^b	1,65	57,79 ^{ab}	1,97
S-Thr	3,15 ^{ab}	0,06	45,33 ^b	1,69	57,20 ^{ab}	1,29
SPC-Thr	3,19 ^b	0,04	47,22 ^b	1,45	58,76 ^b	1,06
SF_{Hitze}-Thr	3,16 ^{ab}	0,03	45,01 ^b	1,67	57,90 ^b	1,33
R-Thr	3,08 ^a	0,06	40,82 ^a	2,28	56,17 ^{ab}	1,57

Das PER zeigt relativ homogene Werte für die untersuchten Diäten und variiert zwischen 3,19 (SPC-Thr) und 3,08 (R-Thr), wobei sich lediglich diese Extremwerte signifikant voneinander unterscheiden. Der PPW differenziert die Diäten in zwei Gruppen: Eine Gruppe umfaßt die Diäten SPC-Thr, FM-Thr, S-Thr und SF_{Hitze}-Thr, deren PPW in einem engen Bereich von 47,22 und 45,01% liegt. Die zweite Gruppe beinhaltet die Diäten R-Thr und B-Thr, deren PPW 40,82 bzw. 40,38% beträgt und im Vergleich zu ersterer Gruppe einen signifikant niedrigeren Wert aufweist. Der Physiologische Nutzwert liegt in einem Bereich von 58,76 und 54,55%, wobei sich die Extremwerte signifikant voneinander unterscheiden. Der Maximalwert wird von der Diät SPC-Thr und der Minimalwert von der Diät B-Thr gestellt. Der PNU der anderen Diäten beträgt in abnehmender Höhe 57,90 (SF_{Hitze}-Thr), 57,79 FM-Thr, 57,20 (S-Thr) sowie 56,17% (R-Thr).

Die beobachtete N-Aufnahme (siehe Tab. 4.14) umfaßt Werte in einem weiten Bereich zwischen 618 und 330 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d. Im Vergleich hohe Werte werden von den Gruppen FM-Thr (618 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d) und SPC-Thr (537 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d), mittlere von den Diäten S-Thr (504 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d) und SF_{Hitze}-Thr (439 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d) sowie geringe von den Diäten B-Thr (365 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d) und R-Thr

(330 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d) eingenommen. Der resultierende N-Ansatz variiert in einem Bereich von 292 bis 136 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d, wobei vergleichbar mit der N-Aufnahme die Diäten FM-Thr und SPC-Thr mit 292 bzw. 254 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d die höchsten Ansatzwerte erzielen. Es folgen die Sojaprotein-haltigen Diäten S-Thr und SF_{Hitze}-Thr mit Werten von 229 und 198 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d. Der geringste N-Ansatz mit 147 und 136 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d ist bei den Gruppen B-Thr bzw. R-Thr zu verzeichnen.

Tab. 4.14: Berechnung der Modellparameter für die Threonin-limitierten Mischungen

Diät	N-Aufnahme		N-Ansatz		Proteinqualität				c _{Thr} (g/16 g N)	bc ⁻¹ _{Thr}	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)				b-Wert		PNU (%) ¹			MW	SD
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD			
B-Thr	365 ^a	27	147 ^{ab}	10	2645 ^a	81	65,9 ^a	0,8	2,74	967 ^{ab}	30
FM-Thr	618 ^c	21	292 ^d	3	3874 ^c	170	74,7 ^d	0,8	3,22	1202 ^c	52
S-Thr	504 ^b	60	229 ^c	33	3078 ^{ab}	273	69,6 ^{bc}	2,1	3,19	965 ^{ab}	85
SPC-Thr	537 ^{bc}	46	254 ^{cd}	28	3382 ^b	301	71,8 ^{cd}	2,1	3,19	1060 ^{bc}	94
SF_{Hitze}-Thr	439 ^{ab}	72	198 ^{bc}	39	2959 ^{ab}	211	68,7 ^{abc}	1,7	3,14	942 ^{ab}	67
R-Thr	330 ^a	52	136 ^a	28	2761 ^a	101	67,0 ^{ab}	1,0	3,10	892 ^a	33

⁽¹⁾standardisiert auf eine N-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d

Insgesamt liegen die Werte für den N-Ansatz deutlich höher als der im Abschnitt 4.1.1 in Zusammenhang mit der Lysinwirksamkeit bestimmte Grenzwert von 55 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d und können somit zur Wirksamkeitsbestimmung und Bedarfsableitung für die Aminosäure Threonin herangezogen werden. Die Betrachtung der Proteinqualität weist auf einen signifikant erhöhten b-Wert von 3874 für die Diät FM-Thr hin. Die anderen Diäten decken ein breites Spektrum von b-Werten zwischen 3382 (SPC-Thr) und 2645 (B-Thr) ab, wobei die Soja-haltigen Diäten eine mittlere Stellung von Werten bis hinunter zu 2959 (SF_{Hitze}-Thr) annehmen, gefolgt von den Gruppen R-Thr (2761) und B-Thr. Der Physiologische Nutzwert (PNU) unterstreicht tendenziell die bezüglich Proteinqualität herausragende Stellung der Diät FM-Thr mit einem PNU von 74,7%, ist jedoch in gleicher Größenordnung mit dem PNU der Diät SPC-Thr von 71,8% zu sehen. Innerhalb der Soja-haltigen Diäten, deren PNU zwischen 71,8 und 68,7% (SF_{Hitze}-Thr) schwankt, existieren keine signifikanten Unterschiede. Einen tendenziell niedrigeren PNU von 67,0 bzw. 65,9% weisen die Diäten R-Thr und B-Thr auf.

Die Threoninwirksamkeit (bc⁻¹_{Thr}) variiert in den untersuchten Mischungen zwischen 1202 und 892. Hohe Werte verzeichnen die Diäten FM-Thr (1202) und

SPC-Thr (1060). Es folgen die Basaldiät mit einer Threoninwirksamkeit von 967 sowie die Diäten S-Thr (965), SF_{Hitze}-Thr (942) und R-Thr (892).

Nach Durchführung des Differenzverfahrens (siehe Kap.3.3.1.1) ergibt sich die Threoninwirksamkeit der Testproteine, die folgende Werte aufweisen:

- Fischmehl: 1555 ± 131
- Sojaproteinkonzentrat: 1201 ± 236
- Sojaextraktionsschrot: 962 ± 214
- hydrothermisch-behandelte Sojaflakes: 905 ± 168
- Rapsextraktionsschrot: 742 ± 98

Es zeigt sich, daß bc^{-1}_{Thr} in einem weiten Bereich von 742 und 1555 variiert. Die Standardabweichung der Threoninwirksamkeit aller Einzelproteine beträgt zwischen 8,4 und 22,2% und weist einen Mittelwert von 16,4% auf.

4.3.2 Ableitungen zum Threoninbedarf

Tab. 4.15 gibt Auskunft zum berechneten Bedarfsbereich, der sich in Abhängigkeit des gewünschten Proteinansatzes ergibt und die in den Futtermischungen vorgefundene Threoninwirksamkeit einschließt.

Tab. 4.15: Kalkulierter Threoninbedarf in Abhängigkeit von Proteinansatz und Threoninwirksamkeit der eingesetzten Futtermischung

Proteinansatz (mg/d)⁽¹⁾	241			200			158			116		
Ausschöpfung von PD_{max}T (%)	90			80			70			60		
bc⁻¹_{Thr}	850	1050	1250	850	1050	1250	850	1050	1250	850	1050	1250
Threoninbedarf:												
mg/LM_{kg}^{0,67}/d	169	137	115	118	96	80	89	72	60	67	55	46
(mg/d)⁽¹⁾	23	18	15	16	13	11	12	10	8	9	7	6
% im Futter^{(1) (2)}	1,52	1,23	1,03	1,06	0,86	0,72	0,79	0,64	0,54	0,60	0,49	0,41
% im Futter^{(1) (3)}	1,82	1,47	1,24	1,27	1,03	0,87	0,95	0,77	0,65	0,72	0,59	0,49

⁽¹⁾für eine Tilapie mit einer Lebendmasse von 50g

⁽²⁾bei einer Futteraufnahme von 3,0% der Lebendmasse pro Tag

⁽³⁾bei einer Futteraufnahme von 2,5% der Lebendmasse pro Tag

Analog zu den Erläuterungen zur Ableitung des Lysinbedarfs (Kap. 4.1.3) bzw. zur Ableitung des Methionin/Cystinbedarfs (Kap. 4.2.2) wird eine hohe Threoninzufuhr benötigt, um eine hohe Ausschöpfung des maximalen theoretischen Proteinretentionsvermögens ($PD_{\max T}$) zu realisieren. Ein niedriger Proteinansatz erfordert dagegen eine niedrige Threoninaufnahme. Eine hohe Threoninwirksamkeit der eingesetzten Futtermischungen senkt den Threoninbedarf bezüglich einer angestrebten Leistung, während eine niedrige Threoninwirksamkeit den Threoninbedarf steigert. Ein hoher Leistungsbereich von 90% Ausschöpfung setzt eine Threoninzufuhr von 115 bis 169 $\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ voraus, während in einem mittleren Bereich von 60% Ausschöpfung ein Bedarf von 46 bis 67 $\text{mg/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ anzusetzen ist. Weist die Tilapie eine Lebendmasse von 50g auf, beträgt die entsprechende Threoninzufuhr 15 bis 23 mg/d (90% Ausschöpfung) bzw. 6 bis 9 mg/d (60% Ausschöpfung). Realisiert das Tier eine hohe Futteraufnahme, verringert sich die notwendige Threoninkonzentration im Futter im Vergleich zu einer niedrigeren Futteraufnahme, die einen höheren Threoningehalt erfordert, um einen vergleichbaren Proteinansatz zu erzielen. Bezogen auf die Angaben in Tab. 4.15 ergibt sich bei einer täglichen Futteraufnahme von 3% der Lebendmasse ein von der Threoninwirksamkeit abhängiger Bedarf von 1,03 bis 1,52% bei 90% Ausschöpfung. Beträgt der tägliche Futtermittelverzehr hingegen 2,5% der Lebendmasse, steigt der notwendige Threoningehalt im Futter auf 1,24 bis 1,82% an. Eine Herabsetzung der Ausschöpfung von $PD_{\max T}$ auf 60% verringert den Threoninbedarf deutlich. Bei einer täglichen Futteraufnahme von 3% der Lebendmasse sinkt die im Futter erforderliche Threoninkonzentration auf 0,41 bis 0,60%. Eine Reduktion der Futteraufnahme um 0,5% hebt demgegenüber den notwendigen Threoningehalt im Futter auf 0,49 bis 0,72% an.

5 Diskussion

Im ersten Diskussionsteil (Kap. 5.1) werden mögliche Ursachen analysiert, die eine erhöhte Variabilität der berechneten Aminosäure-Wirksamkeit verursacht haben könnten. Kap. 5.2 geht auf die Auswirkungen der Supplementation von kristallinen Aminosäuren als Nachweis einer Aminosäure-Limitation ein, während im letzten Abschnitt eine vergleichende Diskussion der kalkulierten Aminosäure-Bedarfswerte erfolgt (Kap. 5.3).

5.1 Ursachen für die hohe Variabilität der ermittelten Ergebnisse zur Aminosäure-Wirksamkeit

Ein zentrales Merkmal der in der vorliegenden Arbeit ermittelten Daten zur Aminosäure-Wirksamkeit ist, daß diese zu einem Teil mit einer relativ hohen Standardabweichung zwischen 5 und 10% ausgestattet sind. Daraus folgt, daß der abgeleitete Aminosäurebedarf ebenfalls einer Variabilität unterliegt. Die hohe Standardabweichung hatte zudem Auswirkungen auf die unter Anwendung des Differenzverfahrens abgeleiteten Ergebnisse zur Aminosäure-Wirksamkeit einzelner Futterproteine. Die Berechnung der Aminosäure-Wirksamkeit des Testproteins über den variierenden Mittelwert einer Basalmischung bewirkt einen kumulativen Fehler, so daß dieses Verfahren die Standardabweichung des Testproteins erhöht. Dadurch wurden Standardabweichungen der Lysin-Wirksamkeit von Erbsenproteinen bis zu 34,3% (vergl. Kap. 4.1.2) sowie der Threonin-Wirksamkeit verschiedener Testproteine bis zu 22,2% (vergl. Kap. 4.3.1) verursacht. Damit erschien eine zuverlässige Abschätzung des Aminosäurebedarfs auf der Grundlage einzelner Futterproteine nicht sinnvoll und beschränkte sich auf die untersuchten Proteinmischungen.

Im folgenden sollen Ursachen vorgestellt und diskutiert werden, die zu der erhöhten Variabilität der berechneten Aminosäure-Wirksamkeit beigetragen haben könnten. Ausgangspunkt hierfür ist die Beobachtung, daß sich mit zunehmender Versuchsdauer eine fortschreitende Differenzierung der individuellen Lebendmasse der Tilapien in den Versuchsgruppen einstellte. Dies hatte zur Folge, daß zum Zeitpunkt der Probennahme für die Ganzkörperanalyse keine ausreichende Zahl an repräsentativen Tilapien mit der

erforderlichen durchschnittlichen Lebendmasse zur Verfügung standen. Alternativ wurde deshalb auf drei Tiere zurückgegriffen, deren Gesamtlebendmasse der Körpermasse dreier repräsentativer Tiere möglichst nahe kam. Im Zuge dieser Probennahmestrategie wurden somit leichtere und schwerere Tiere je nach Verfügbarkeit für jedes Becken miteinander kombiniert, was zu einer Erhöhung der Variabilität des analysierten Stickstoffansatzes geführt hat.

Eine Differenzierung der individuellen Lebendmassen weist darauf hin, daß die Lebendmasse-abhängige Stickstoffaufnahme der Individuen innerhalb einer Gruppe trotz *ad libitum*-Fütterung Unterschiede aufwies und somit ebenfalls einer Variabilität unterlag. N-Aufnahme und N-Ansatz streuten demnach, was sich auf die Standardabweichung der Aminosäure-Wirksamkeit einer Versuchsdiät auswirkte und die bei einigen Behandlungen beobachtete Variabilität im Bereich von 5-10% erklären kann.

Es kommen zwei Ursachen in Betracht, die die beschriebene individuelle Differenzierung der Lebendmasse innerhalb eines Beckens haben auslösen können: Zum einen die individuelle Variation im Proteinturnover der Individuen einer Gruppe, die bei gleicher Futteraufnahme zu unterschiedlichem Proteinansatz führt und zum anderen die Ausbildung einer hierarchischen Struktur, die starke Individuen im Wachstum begünstigt und schwache Mitglieder der Gruppe benachteiligt. Dabei kommt es zu Interaktionen beider Faktoren, die im folgenden separat voneinander beschrieben und bewertet werden.

5.1.1 Individuelle Variationen im Proteinturnover

Durch den Prozeß der Fütterung wird eine Dynamik in den individuellen physiologischen Systemen der Tiere induziert, indem diese auf die Folgen der Mahlzeit reagieren (CARTER et al. 2001). Der individuelle Metabolismus von Fischen ist verschiedenartig, was sich in einer unterschiedlich effizienten Nutzung des Futters für das Wachstum äußert (CARTER & BRAFIELD 1991). Eine Reihe von Untersuchungen belegen, daß individuelle Unterschiede im Protein-Stickstofffluß bei gleicher Nährstoffzufuhr zu verschiedenen Wachstumsraten führen und somit einen Teil der in den Versuchen beobachteten Variabilität erklären können. Da die Synthese von Proteinen einen bedeutenden Teil der gesamten Energieausgaben bei Fischen einnimmt (CARTER et al. 1993a),

sind die Kosten des Proteinzuwachses eng an die Effizienz, mit der synthetisiertes Protein in Proteinansatz überführt wird, gebunden.

CARTER et al. (1993b) stellten in einer Gruppe von Atlantischen Lachsen fest, daß einzelne Tiere bei gleicher Futteraufnahme Unterschiede hinsichtlich ihrer Wachstumseffizienz aufwiesen. Unterschiede in der Effizienz der Proteinabsorption konnten nicht ermittelt werden. Eine Analyse des Protein-Stickstoffflusses ergab, daß sich die effizienteren Tiere durch eine stärkere Stimulation der Proteinsynthese auszeichneten, die durch ein verstärktes Einfließen rezyklrierender Aminosäuren aufrechterhalten wurde. Der Abbau von Proteinen verlief in beiden Gruppen in vergleichbarer Größenordnung. Die Autoren schlossen daraus, daß individuelle Unterschiede in der Aufteilung des Stickstoffflusses zwischen Wachstum und Oxidation existierten. Eine kontrollierende Funktion katabolischer Prozesse auf die individuelle Proteindeposition und damit auf die Wachstumsrate Atlantischer Lachse wurde auch von SVEIER et al. (2000) postuliert. Untermauert wird dieses durch Beobachtungen an verschiedenen Stämmen von Regenbogenforellen, bei denen sich diejenigen mit einer effizienteren Stickstoffretention durch eine geringere Stickstoffexkretion auszeichneten (MING 1985). Auch SUNDE et al. (2001) beobachteten bei individuell markierten Atlantischen Lachsen, daß höhere Wachstumsraten nicht nur auf höheren Futteraufnahmen beruhen konnten, sondern auch auf einer effizienteren Nutzung des verzehrten Futters.

Untersuchungen von CARTER et al. (1993a) an Graskarpfen (*Ctenopharyngodon idella*) zeigten, daß auch diese Fischart individuelle Unterschiede im Proteinfluß aufweist. Der für einzelne Tiere bestimmte Produktive Proteinwert (PPW) korrelierte negativ mit der Proteindegradationsrate, während kein Zusammenhang zur Proteinsyntheserate nachgewiesen werden konnte. Ein Vergleich einzelner Tiere, die bei gleicher Futteraufnahme unterschiedliche Wachstumsraten realisierten, führte zu der Aussage der Autoren, daß sich die schnellwüchsigeren Tiere durch eine niedrigere Proteinabbaurate sowie durch eine höhere Retention des synthetisierten Proteins auszeichneten. Ein höherer Proteinansatz und damit ein effizienteres Wachstum wurde demnach mit einer geringeren Proteindegradation begründet. Juvenile Flundern (*Pleuronectes flesus*) bildeten ebenfalls individuelle Unterschiede im Proteinzuwachs aus, indem effizienter wachsende Tiere einen geringen Protein-Turnover aufwiesen (CARTER et al. 1998). Dieses äußerte sich in verringerten Proteinsynthese- und Proteindegradationsraten bei gleich-

zeitig verbesserter Retention des synthetisierten Proteins. Eine aktuelle Studie an Regenbogenforellen belegt, daß eine erhöhte individuelle Aktivität des hepatischen Proteasoms, einem Hauptweg der Proteindegradation, mit einem weniger effizienten Wachstum korreliert (DOBLY et al. 2004). Im Gegensatz zu anderen Studien konnte nachgewiesen werden, daß der gesteigerte Abbau von Proteinen bei weniger effizienten Tieren von einer erhöhten Synthese von Proteinen begleitet wurde. Damit stiegen die energetischen Kosten an, die mit der Aufrechterhaltung beider Prozesse auf höherem Niveau verbunden sind.

Nach Ansicht von HAWKINS (1991) sind Genotyp-abhängige Unterschiede in den Protein-Turnoverraten des Ganzkörpers im wesentlichen bedingt durch Unterschiede im Erhaltungsbedarf der Tiere. TOMAS et al. (1991) argumentierten, daß in selektierten Linien von Hühnern die Proteindegradation der Muskulatur genetisch determiniert und eine Selektion hinsichtlich eines effizienteren Wachstums mit geringeren Proteinabbauraten verknüpft war. Ein geringer Turnover von Proteinen kann unter dem Einfluß von Umwelt-Stressoren nachteilig sein, denn er reduziert wahrscheinlich die Adaptationsfähigkeit des Organismus gegenüber negativen äußeren Einflüssen (HOULIHAN et al. 1994). Da die in den Experimenten eingesetzten Nil-Tilapien von wildlebenden Verwandten aus dem Lake Mansala/Kenia abstammen und züchterisch nicht auf Wachstum selektiert wurden, ist eine hohe natürliche Variabilität im individuellen Protein-Turnover der Tiere anzunehmen.

Neben individuellen Unterschieden im Proteinstoffwechsel wurden bei Atlantischen Lachsen unterschiedliche, genetisch determinierte Trypsin-Isozyme nachgewiesen, die zu Variationen in der individuellen Wachstumseffizienz führten (TORRISSEN et al. 1994). Trypsin stellt das Schlüsselenzym der Proteinverdauung dar, da es andere Zymogene des Pankreas aktiviert. Die Bedeutung dieses Enzyms liegt nach einer Hypothese von TORRISSEN et al. (1994) ferner darin, daß ein primärer Wachstumsmechanismus durch die Sekretion von Trypsin begründet sein könnte, der die Verdauung des Futters steigert. Damit werden Aminosäuren bereitgestellt, die auf die Sekretion von Insulin stimulierend wirken, das dann seinerseits das Zusammenwirken von Nährstoffen für ein optimales Wachstum des Atlantischen Lachses reguliert. Die Rate, mit der Protein im Verdauungstrakt aufgeschlossen wird, begrenzt den Einstrom von Nährstoffen in die

Blutzirkulation und kann potentiell das Wachstum des Organismus limitieren (LEMIEUX et al. 1999).

Eine verbesserte Verdauung und Absorption des Futterproteins, signifikant erhöhte Werte freier Aminosäuren im Plasma und der Muskulatur sowie ein deutlich verbessertes Wachstum wurden assoziiert mit dem Vorhandensein einer bestimmten Trypsin-Variante (TRP-2*92) (TORRISEN et al. 1994). Als ursächlich für ein höheres Proteinwirkungsverhältnis (PER) bei Tieren mit dieser Trypsin-Variante wurde von TORRISEN & SHEARER (1992) neben einer erhöhten Verfügbarkeit des Proteins ein Rückgang der Katabolisierung von Aminosäuren vermutet.

Obwohl diesbezüglich keine Experimente mit Nil-Tilapien vorliegen, zeigen die erläuterten Studien eindrücklich, daß Unterschiede in der genetischen bzw. biochemischen Ausstattung die Effizienz beeinflussen, mit der einzelne Tiere innerhalb einer Gruppe ihren Proteinzuwachs regulieren. Dies liefert Hinweise dafür, wie - ohne das Untersuchungen zum Proteinstoffwechsel oder zur enzymatischen Ausstattung der Versuchstiere angestellt wurden - ein Teil der in den vorliegenden Experimenten beobachteten Variabilität erklärt werden könnte.

Sollte die Lebendmassedifferenzierung der Nil-Tilapien in der vorliegenden Arbeit zu einem Teil genetisch bedingter Natur sein, so könnte eine Selektion der Tiere hinsichtlich einer effizienteren Nutzung des aufgenommenen Stickstoffs zu einer höheren Uniformität der Körpermasse unter experimentellen Bedingungen wie auch unter Produktionsbedingungen beitragen.

5.1.2 Ausbildung von sozialen Hierarchien

Die Futteraufnahme von Einzelfischen in Gruppen kann stark variieren und ist die hauptsächliche Ursache für Unterschiede in der Wachstumsrate (CARTER et al. 1993b). Im allgemeinen kann die interindividuelle Variation der Wachstumsrate zu 70-80% durch Unterschiede im Futterverzehr erklärt werden (HOULIHAN et al. 1995). Aus der positiven Korrelation von Proteinaufnahme und Proteinsynthese (HOULIHAN et al. 1988; CARTER et al. 1993a, b, 1998) bzw. Proteinaufnahme und Proteinansatz (HOULIHAN et al. 1988, 1989; CARTER et al. 1993a; CARTER & BRANSDEN 2001) folgt, daß Tiere innerhalb einer Gruppe, die einen unterschiedlichen Zugang zur

Nahrungsressource haben, unterschiedlich starke Wachstumsleistungen realisieren. Ursächlich hierfür sind sozial dominante Individuen, die einen höheren Anteil der verfügbaren Nahrung aufnehmen und andere, subdominante Tiere bei der Nahrungsaufnahme behindern (CARTER et al. 1992; MCCARTHY et al. 1992). Weitere biologische Parameter wie Appetit, Streß und Überlebensrate werden von hierarchischen Strukturen beeinflusst (MOUTOU et al. 1998). Individuelle Unterschiede im Protein-Turnover, wie sie im vorangegangenen Abschnitt beschrieben wurden, können somit von den Auswirkungen sozialer Interaktionen überlagert werden (HOULIHAN et al. 1995).

Eine Reihe von Fischarten bilden - in Gruppen gehalten - Hierarchien aus. Atlantische Lachse bilden soziale Strukturen aus, die durch aggressives Verhalten der Einzeltiere untereinander gekennzeichnet sind und zur Ausbildung von Hierarchien führen (HOULIHAN et al. 1995). Nach einem Modell von HOULIHAN et al. (1995) ist eine solche Gemeinschaft mit einer einfachen, linear hierarchischen Struktur dadurch charakterisiert, daß mit einem höheren Rang sowohl der Anteil an der Futterration als auch der Anteil, mit dem synthetisiertes Protein in Proteinansatz überführt wird, ansteigt. Dieses wirkt sich positiv auf den Proteinzuwachs ranghöherer Individuen aus. Gleichzeitig wirkt ein chronischer Streß auf untergeordnete Individuen ein, der sich negativ auf Wachstum und Immunokompetenz auswirkt. Der in einer Streßsituation erhöhte Cortisolspiegel hemmt die Proteinsynthese und stimuliert die Proteindegradation (VAN DER BOON et al. 1991). Auch CARTER et al. (1998) gehen von einem negativen Einfluß von Streß auf die Proteinsyntheserate von Fischen aus. Nach HOULIHAN et al. (1995) können dominante Tiere in größeren, komplexeren Gruppen ebenfalls einer erhöhten Streßeinwirkung unterliegen, die sich aus der Notwendigkeit begründet, die eingenommene Position zu verteidigen. Eine solche Konstellation kann somit auch für ranghöhere Tiere mit höheren metabolischen Kosten für das Wachstum verbunden sein.

MCCARTHY et al. (1992) analysierten die individuelle Futteraufnahme innerhalb einer hierarchisch strukturierten Gruppe von Regenbogenforellen als Reaktion auf wechselnde Futterverfügbarkeiten. Untergeordnete Tiere verzehrten weniger der angebotenen Futtermenge und wiesen eine hohe Variabilität in der täglichen Futteraufnahme auf. Es zeigte sich, daß mit zunehmenden Futtergaben die Variation im Futterverzehr subdominanter Tiere zurückging, was als Zeichen einer Abschwächung der Hierarchie interpretiert wurde. Auch MOUTOU et al. (1998) bestätigten, daß die Stärke einer sozialen

Hierarchie innerhalb einer Gruppe von Regenbogenforellen maßgeblich von der täglichen Ration bestimmt wurde. Die Häufigkeit von Bißverletzungen an den Flossen - ein Indikator für die Stärke der sozialen Ordnung - nahm mit steigendem Futterangebot ab. Subdominante Regenbogenforellen wiesen eine erhöhte Serotoninaktivität - einem neurochemischen Marker für den sozialen Rang - im Gehirn auf, die mit der Wachstumsrate negativ korrelierte (WINBERG et al. 1993). Die Autoren vermuteten, daß weniger effizient wachsende Fische aus den Versuchsgruppen einem Streß-induzierten, erhöhten Katabolismus unterlagen. Eine erhöhte metabolische Rate untergeordneter Individuen in Verbindung mit einer sozialen Streßeinwirkung wurde als Ursache dafür angeführt, daß paarweise gehälterte Regenbogenforellen bei einer vergleichbaren Futteraufnahme eine unterschiedliche Wachstumsleistung aufwiesen (ABBOTT & DILL 1989). Die Wachstumsrate des subdominanten Tieres blieb deutlich hinter der des dominanten Partners zurück, obwohl dieser eine erhöhte Aktivität aufwies. Arktische Saiblinge (*Salvelinus alpinus*), die gehungert und gleichzeitig einem Streß ausgesetzt wurden, verloren mehr Lebendmasse als ungestört gehungerte Tiere, obwohl die Streßeinwirkung eine Reduktion der lokomotorischen Aktivität nach sich zog (WINBERG et al. 1992). CARTER et al. (1993b) konnten bei Atlantischen Lachsen jedoch keinen Zusammenhang zwischen der hierarchischen Position und der Wachstumseffizienz feststellen.

Ähnlich wie Salmoniden bilden Tilapien komplexe soziale Strukturen aus, die sich aus dominanten (α) und untergeordneten (β) Individuen zusammensetzen (FISHELSON 1984). Die soziale Ordnung begrenzt aggressives Verhalten, verhindert aber nicht, daß subdominante Tiere einem chronischem Streß ausgesetzt sind, der die Immunkompetenz unabhängig von der Hälterungsdichte herabsenkt (CARUSO & LAZARD 1999). CARUSO & LAZARD (1999) beobachteten in verschiedenen Gruppen von Nil-Tilapien unterschiedlicher Besatzdichte eine komplexe Organisation und ermittelten anhand von Verhaltens- und Fleckenmustern der Tiere die Ausprägung von bis zu 4 Hierarchieebenen (α_1 , α_2 , β_1 , β_2), wobei die oberen Hierarchiestufen (α_1 , α_2) jeweils unterschiedlich große Territorien beanspruchten. Das Revier des α_1 -Tieres wurde auf 30-50% des Beckenvolumens geschätzt und durch ritualisiertes Drohverhalten bzw. aggressive Attacken gegenüber den anderen Beckenbewohnern verteidigt. Gegenüber den rangniedrigsten β_2 -Tieren zeigten sämtliche höhere Hierarchiestufen aggressives Verhalten. Die Uniformität des Futtermittels innerhalb einer solchen sozialen Struktur

kann verbessert werden, wenn das Futter nicht punktförmig ausgebracht, sondern über die gesamte Wasseroberfläche verteilt angeboten wird (MCCARTHY et al. 1999). Während die Punkt-Fütterung zur Ausbildung von stabilen Hierarchien führt, fördert eine Verteilung des Futters Wechsel in der sozialen Position einzelner Tiere und damit Veränderungen im individuellen Zugang zur Nahrungsressource. Neben der räumlich-zeitlichen Futterverteilung hängt die inter-individuelle sowie die intra-individuelle (über den Versuchszeitraum bestimmte) Variation der Futteraufnahme von der individuellen Zusammensetzung der Gruppe, der Gruppengröße sowie dem Rationsniveau ab (MCCARTHY et al. 1999). Es ist zu vermuten, daß bei Tilapien, vergleichbar mit den Verhältnissen bei Atlantischen Lachsen, subordinationsinduzierter Streß ein weniger effizientes Wachstum nach sich ziehen kann.

Bei den Nil-Tilapien der vorliegenden Untersuchung wurden komplexe, nicht lineare Hierarchien beobachtet, bei denen sich mehrere dominante Individuen das Beckenvolumen aufteilten. Bißverletzungen an Flossen und Körper als Folge von Auseinandersetzungen wurden bei den Tieren nicht beobachtet. Stattdessen dienten Flossenspreizen und ritualisierte Maulkämpfe der Strukturierung bzw. der Aufrechterhaltung der hierarchischen Ordnung.

Die Dominanzverhältnisse erschienen, über den gesamten Versuchszeitraum betrachtet, einer Dynamik zu unterliegen, die jedoch mit zunehmender Versuchsdauer sowie fortgesetzter divergierender Futteraufnahme und den sich damit manifestierenden Lebendmasseunterschieden abgeschwächt wurde. Die beckenspezifisch unterschiedliche Struktur der Hierarchie trug zur Variabilität der Körpermasseentwicklung innerhalb einer Behandlung entscheidend bei. Auch WINBERG et al. (1993) berichteten, daß Regenbogenforellen, wahrscheinlich als Folge differenzierter individueller Wettbewerbsfähigkeit, in den gleichen Tanks Hierarchien unterschiedlicher Stärke ausbildeten, was zu einer Erhöhung der Variabilität von Futteraufnahme und Wachstumsrate führte.

Einer Monopolisierung der Futterressource durch einzelne Fische und den damit verbundenen Variationen der Futteraufnahme innerhalb der Gruppe konnte in den vorliegenden Experimenten zu einem Teil durch die großflächige, manuelle Verteilung der Pellets entgegengewirkt werden. Den physiologischen Folgen eines chronischen Stresses und deren Auswirkungen auf Futterverzehr und Metabolismus konnte auf diese

Weise jedoch nicht begegnet werden, so daß die Tiere ein stark heterogenes Wachstum aufwiesen.

Auch die *ad libitum* Fütterung diene dazu, die Stärke der hierarchischen Ordnung abzumildern. Ein *pair fed* Verfahren, das sich an der Gruppe mit der geringsten Futtermittelaufnahme orientierte, hätte eine Verknappung des Futterangebots aller weiteren Becken und damit eine Erhöhung der individuellen Variabilität von Proteinaufnahme und Proteinansatz nach sich gezogen. Ob das Ausbringen von Aminosäure-limitiertem Futter von den Tilapien als Ressourcenverknappung hinsichtlich der zur Verfügung stehenden Eiweißbausteine interpretiert wurde und damit eine Verstärkung der hierarchischen Struktur bewirkte, kann aufgrund der vorliegenden Literatur nicht beantwortet werden.

Aus dieser Betrachtung folgt, daß Unterschiede in der Balance zwischen Proteinkonsumption, Proteinsynthese, Proteindegradation und resultierendem Proteinansatz, seien sie individueller Natur oder eine Folge unterschiedlicher Futteraufnahmen, die in den Experimenten beobachtete Variabilität der abgeleiteten Aminosäure-Wirksamkeitsparameter hinreichend erklären können. Da es sich bei den verwendeten Nil-Tilapien um kein auf hohe Wachstumsleistung selektiertes Tiermaterial handelte, ist davon auszugehen, daß sowohl individuelle Unterschiede im Protein-Turnover als auch die Ausbildung einer hierarchischen Struktur wesentlich zu der beobachteten Variabilität der Untersuchungsparameter beitrug. Als Konsequenz ergibt sich für zukünftige Untersuchungen die Möglichkeit, die Zahl der Wiederholungen einer Behandlung gegenüber der vorliegenden Studie zu erhöhen. Alternativ dazu könnten unterschiedliche Gruppengrößen zu einer Verringerung der Streuung von N-Aufnahme und N-Ansatz beitragen.

5.2 Bewertung des Einsatzes von kristallinen Aminosäuren zum Nachweis einer Aminosäure-Limitation

Wie in Kapitel 3.3.1.1 erwähnt, diente der Führung eines Nachweises einer erfolgreichen Limitation der untersuchten Aminosäure in den Versuchsdiäten eine Supplementation der betreffenden Aminosäure in kristalliner Form. Zu diesem Zweck kam für jede Behandlung ein zusätzliches Becken zum Einsatz, in dem die Wirkung dieser Aminosäure-Ergänzung auf wichtige zootechnische Parameter beobachtet werden konnte. Diese Vorgehensweise wurde als notwendig erachtet, da die derzeit gültigen Versorgungsempfehlungen zum Aminosäurebedarf von Nil-Tilapien (NRC 1993) lediglich auf einer Arbeit beruhen (SANTIAGO & LOVELL 1988), die den Aminosäurebedarf dieser Art in einem deutlich geringeren Lebendmasseabschnitt als in der vorliegenden Arbeit unter Verwendung von hohen Anteilen an freien Aminosäuren (14,1 bis 23,9%) untersucht. Der Aminosäurebedarf von Fischen ist sowohl alters- bzw. lebendmasseabhängig (DABROWSKI 1986; FIOGBÉ & KESTEMONT 1995) als auch abhängig von der Aminosäure-Wirksamkeit der Proteinquelle, so daß vor diesem Hintergrund einer begrenzten Übertragbarkeit der Bedarfsempfehlung erwartet werden konnte.

Ein Vergleich der zootechnischen Parameter Wachstum und Futteraufnahme sämtlicher eingesetzter Diäten weist einen deutlich positiven Effekt einer Aminosäure-Supplementation unabhängig von der jeweils untersuchten Aminosäure nach (vergl. Tab. 4.1, 4.4, 4.8, 4.12 mit A1, A4, A7, A11 im Anhang). Eine Ausnahme bilden die Diäten FM-Met und R-Met (Tab. 4.8, A7). Eine Limitation der untersuchten Aminosäuren ist somit gegeben, was eine Voraussetzung für die Berechnung der Aminosäure-Wirksamkeit und die Ableitung des Aminosäurebedarfs darstellt (LIEBERT 1986).

Ein Vergleich der Ergebnisse zur Proteinverwertung anhand der klassischen Parameter PER, PPW sowie PNU (vergl. Tab. 4.2, 4.5, 4.9, 4.13 mit A2, A5, A8 und A11 im Anhang) weist jedoch in einer Reihe von Diäten auf keinen deutlichen Supplementationseffekt hin. Dies betrifft sowohl Lysin-limitierte Diäten, wie z. B. SF_{Hitze}-Lys oder FM-Lys (V2) als auch nahezu sämtliche Threonin-limitierten Diäten. Im Gegensatz dazu ist ein Supplementationseffekt bei den Methionin- sowie bei anderen Lysin-limitierten Diäten, wie z. B. BE-Lys, EF-Lys erkennbar. Daraus folgt, daß die klassischen Parameter zur Proteinverwertung in der vorliegenden Untersuchung nur eingeschränkt zur Überprüfung einer Aminosäure-Limitanz geeignet waren.

Eine deutliche Verbesserung des Proteinwirkungsverhältnisses (PER) durch gestaffelte Zugaben von freien Aminosäuren im Limitierungsbereich verschiedener essentieller Aminosäuren wurde in einer Reihe von Studien zum Aminosäurebedarf verschiedener Fischarten beobachtet und zur Bedarfsableitung herangezogen (Atlantische Lachse - BERGE et al. 1997, 1998; *Seriola quinqueradiata* - RUCHIMAT et al. 1997a, b; Mrigal (*Cirrhinus mrigala*) - AHMED et al. 2003). Ein Nachteil klassischer Parameter zur Proteinbewertung liegt jedoch darin, daß sie abhängig von der Proteinaufnahme sind (LIEBERT 1998). Der in der vorliegenden Arbeit auf eine Futterraufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d standardisierte Physiologische Nutzwert (PNU) gewährleistet eine N-unabhängige Bewertung der Proteinverwertung (GEBHARDT 1966). Die Ergebnisse unter Anwendung dieses standardisierten Verfahrens zeigen in einer Vielzahl der untersuchten Diäten keine oder lediglich eine leichte Verbesserung durch eine Aminosäure-Ergänzung (vergl. Tab. 4.3, 4.6, 4.10, 4.14 mit A3, A6, A9, A12 im Anhang).

Freie Aminosäuren unterliegen im Vergleich zu proteingebundenen Aminosäuren bei Nil-Tilapien einer erhöhten Absorptionsgeschwindigkeit, was Aminosäure-Imbalancen am Ort der Proteinsynthese bei der kombinierten Verabreichung beider Formen bedingen kann (YAMADA et al. 1982). Dies führte dazu, daß ein hoher Anteil von kristallinen Aminosäuren in einer Diät für *Tilapia zillii* zu einer deutlichen Herabsetzung der Wachstumsleistung führte (MAZID et al. 1978). Ein Mangel an essentiellen Aminosäuren am Ort der Proteinsynthese kann diese einschränken und sich somit negativ auf den Proteinzuwachs auswirken (DE LA HIGUERA et al. 1998). Folglich könnte sich in der vorliegenden Untersuchung nach Verabreichung einer Reihe von Diäten die Proteinverwertung der Tilapien trotz erfolgter Aminosäure-Supplementierung nicht wesentlich erhöht haben.

Die bei allen Testdiäten beobachtete Steigerung der Futterraufnahme ließe sich auf den höheren Gehalt an freien Aminosäuren zurückführen, die bereits in geringen Konzentrationen höchst effektiv die olfaktorischen Rezeptorzellen und Geschmackssensoren von Fischen stimulieren (HARA 1992; KANWAL & FINGER 1992; TIDWELL et al. 1998). Nil-Tilapien reagieren in diesem Zusammenhang auf ein breites Spektrum von neutralen, basischen und sauren Aminosäuren (MARUI & CAPRIO 1992), so daß sich eine Aminosäure-Supplementation positiv auf die Palatabilität der Kontrolldiäten ausgewirkt haben könnte. Wahlstudien an verschiedenen Arten belegen, daß Fische Futterquellen bevorzugen, deren Aminosäureprofil ihrem Bedarf nahekommt (HIDALGO et

al. 1988; YAMAMOTO et al. 2000). Vor diesem Hintergrund ist die höhere Futteraufnahme ein Hinweis darauf, daß die Tiere eine supplementierte und damit ausbalancierte Diät bevorzugen. Diese Verhaltensweise kann als weiteres Indiz dafür gelten, daß die Testdiät in der jeweils untersuchten Aminosäure tatsächlich limitierend war.

Eine begrenzte Anzahl von Arbeiten verwendet Futtermischungen für Tilapien, die sowohl kristalline als auch proteingebundener Aminosäuren umfassen. SANTIAGO & LOVELL (1988) nennen keine Angaben zur Proteinverwertung bzw. zur Futteraufnahme, so daß unklar bleibt, ob gestaffelte Zulagen an essentiellen Aminosäuren bei jungen Nil-Tilapien eine Verbesserung der Proteinqualität bewirkten. Die Übertragbarkeit einer Aussage hinsichtlich einer möglichen Veränderung der Proteinqualität wäre allerdings aufgrund einer unterschiedlichen Fütterungsfrequenz in beiden Arbeiten (4 gegenüber 3 täglichen Fütterungen in der vorliegenden Untersuchung) nur bedingt möglich gewesen, da dieser Parameter im Zusammenhang mit anderen Fischarten einen Einfluß auf die Nutzung kristalliner Aminosäuren ausübte (YAMADA et al. 1981; LOVELL 1998). Die Wahl der Fütterungsfrequenz orientierte sich in der vorliegenden Arbeit am durchschnittlichen Lebendmasse der Tilapien und basierte auf den Empfehlungen von JAUNCEY (1998).

ODUM & EJIKE (1991) beobachteten positive Auswirkungen einer Supplementation einer auf Blut- und Maismehl basierenden Futtermischung mit kristallinem Lysin und Arginin auf die Spezifische Wachstumsrate, die Futteraufnahme sowie das Proteinwirkungsverhältnis junger Nil-Tilapien in einem Lebendmasseabschnitt von 1 bis ca. 4g bei 2 täglichen Fütterungen. Eine Ergänzung mit freiem Threonin hatte jedoch keinen signifikante Effekt auf die genannten Parameter, was wahrscheinlich auf das geringe Niveau anderer essentieller Aminosäuren, insbesondere des Lysins (1,13% in der Mischung) im Vergleich zum niedrigsten Threoningehalt (1,05%) zurückzuführen war. Damit trat Threonin sicherlich nicht als erstlimitierende Aminosäure in Erscheinung, so daß ein Supplementierungseffekt nicht zu erwarten war. Der im Vergleich zum Proteinbedarf von 30-40% (WANG et al. 1985a, b; SIDDIQUI et al. 1988; NRC 1993; SHIAU & PENG 1993; JAUNCEY 1998; OGUNJI & WIRTH 2000; OGUNJI 2001) des von ODUM & EJIKE (1991) verwendeten Wachstumsabschnitts sehr niedrige Rohprotein-gehalt der Testmischungen von 20% deutet überdies auf eine breite Aminosäure-Unterversorgung hin und läßt damit eine ausgeprägtere Limitanz in anderen Aminosäuren vermuten. Die Bewertung eines Effekts einer Threonin-Supplementation auf

zootechnische Parameter hätte somit unter anderen Limitierungsverhältnissen anders ausfallen können.

Nach JACKSON & CAPPER (1982) zeigten 1-6 g schwere *Oreochromis mossambicus* bei drei täglichen Fütterungen eine vergleichbare Wachstumsleistung bzw. eine ähnliche Proteinverwertung, wenn ihnen eine auf kristallinen Aminosäuren basierende Diät zugeteilt wurde, deren Aminosäureprofil das einer zuvor getesteten Mischung aus Fisch-, Soja- und Erdnußmehl simulierte. Die Tiere reagierten auf isonitrogene Mischungen, in denen jeweils 50% der Rohproteinfraktion durch proteingebundene sowie freie Aminosäuren gestellt wurde und die eine der drei Aminosäuren Lysin, Methionin oder Arginin in vier ansteigenden Konzentrationsstufen enthielten, nur in einem Fall (Erhöhung des Lysingehalts von 1,42 auf 1,62%) mit einer signifikanten Steigerung der Spezifischen Wachstumsrate sowie der Proteinverwertung. Sämtliche anderen Testdiäten wiesen keinen positiven Effekt einer Supplementation auf die genannten Parameter nach, was die Autoren auf die insgesamt hohen Konzentrationen der getesteten Aminosäuren zurückführten. DABROWSKI & GUDERLEY (2002) kritisierten an dieser Untersuchung, daß die Lebendmassezunahme der Tilapien mit maximal 270% über einen Zeitraum von sechs Wochen sehr gering ausfiel, so daß ein Einfluß anderer, das Wachstum begrenzender, Faktoren angenommen werden muß.

Nil-Tilapien in einem Lebendmasseabschnitt von 0,6 bis 1,5g konnten ihre Körpermasse in einer 13wöchigen Fütterungsstudie bei drei täglichen Futtergaben und einem optimalen M:C-Verhältnis um lediglich 144% erhöhen (ABDELGHANY 2000). Die niedrige Wachstumsleistung der Tiere wurde begleitet von einem sehr hohen Futteraufwand (3,4) sowie einem geringen Proteinwirkungsverhältnis (1,46) bzw. Produktiven Proteinwert (26,0%). Eine Staffelung der Aminosäure-Supplementation wurde nicht vorgenommen. Ca. 57% der Proteinkomponente bestand aus freien Aminosäuren, während der andere Teil durch eine Casein-Gelatine-Mischung gestellt wurde. Die niedrige Lebendmassezunahme, die in einem früheren Experiment mit natürlichen Proteinquellen bei einem ähnlichen Proteingehalt in einem Zeitraum von 10 Wochen 843 bis 1041% betrug (ABDELGHANY 1986), wurde vom Autor auf den hohen Gehalt freier Aminosäuren in der Diät zurückgeführt. Im Gegensatz dazu erzielten SANTIAGO & LOVELL (1988) mit Nil-Tilapien eines Lebendmasseabschnitts von ca. 50mg bis 2g auf der Basis von Casein-Gelatine-Mischungen und deutlich höheren Anteilen kristalli-

ner Aminosäuren Lebendmassezunahmen von mehreren Tausend Prozent. Ein wesentlicher Unterschied im Versuchsdesign beider Arbeiten stellt die Häufigkeit der täglichen Futterzuteilung dar, die in letztgenannter Studie 4 gegenüber 3 in der vorgenannten betrug.

Aufgrund der geringen Zahl an Studien kann der Einfluß einer kombinierten Fütterung kristalliner und proteingebundener Aminosäuren auf die genannten zootechnischen Parameter von Tilapien nicht abschließend bewertet werden. Es muß jedoch davon ausgegangen werden, daß es unter bestimmten Bedingungen, die den Anteil von freien Aminosäuren in der Testdiät, die Fütterungshäufigkeit und den betrachteten Lebendmasseabschnitt umfassen, zu negativen Auswirkungen kommen kann, wie sie sich in der vorliegenden Arbeit im Rahmen der Proteinverwertung angedeutet haben. Für eine Reihe von Fischarten wurden negative Auswirkungen des gekoppelten Einsatzes beider Aminosäureformen auf die Lysinretention (Nordamerikanische Welse (*Ictalurus punctatus*) - ZARATE & LOVELL 1999; Kabeljaus (*Gadus morhua*) - (BERGE et al. 1994) sowie die muskuläre Synthese und Deposition von Proteinen (Spiegelkarpfen - DE LA HIGUERA et al. 1998; Goldmeerbrassen (*Sparus aurata*) - SIERRA 1995) berichtet. Untersuchungen von ESPE & LIED (1994) zeigen, daß es bei Atlantischen Lachsen ein optimales Verhältnis zwischen beiden Aminosäureformen gibt, das durch eine hohe Wachstumsleistung sowie eine hohe Proteinsyntheserate in der Muskulatur charakterisiert ist. Über- oder Unterschreitungen dieses optimalen Verhältnisses wirkten sich negativ auf die genannten Parameter aus. Dieser Befund legt nahe, daß auch bei anderen Fischarten ein solches optimales Verhältnis existiert.

In Abwesenheit systematischer Untersuchungen zum Umfang des Einbezugs kristalliner Aminosäuren in Diäten für Nil-Tilapien sollte in zukünftigen Arbeiten auf Aminosäuren zurückgegriffen werden, die durch das Aufbringen eines Deckmaterials ("coating") verzögert absorbiert werden. Dieses Verfahren wirkte sich positiv auf die Wachstumsleistung bei der kombinierten Fütterung proteingebundener und freier Aminosäuren bei anderen Fischarten aus (MURAI et al. 1982; COWEY & WALTON 1988; DE LA HIGUERA et al. 1998) und wird von COWEY (1992) generell für zuverlässigere Ableitungen in Studien zum Aminosäurebedarf von Fischen empfohlen.

Während Tripalmitin-Polyvinyl-Acetat bei Nil-Tilapien eine verzögernde Wirkung auf die Absorption von kristallinem Methionin entfaltet, konnte mit Cellulose-Acetat-

Phthalat im Vergleich zu unbehandeltem Methionin kein Effekt festgestellt werden (SEGOVIA & REIGH 2001). CHO et al. (1992) verzögerten erfolgreich die Absorption kristalliner Aminosäuren bei Regenbogenforellen durch das Einmischen von Agarpulver in den Aminosäure-Premix vor dem Einbringen in die Futtermischung. Nicht-Stickstoffhaltige Substanzen mit ähnlichen Eigenschaften könnten durch diese einfache Technik in weiteren Untersuchungen zur Anwendung des N-Verwertungsmodells bei Fischen zum Einsatz kommen.

5.3 Einordnung und Bewertung der berechneten Aminosäure-Bedarfswerte

Bevor eine vergleichende Analyse der in Tab. 5.1 genannten Aminosäure-Bedarfswerte für Nil-Tilapien vorgenommen wird, soll kurz auf die in den anderen Untersuchungen verwendeten Methoden zur Bedarfsableitung eingegangen werden.

5.3.1 Vergleichende Bewertung der bislang eingesetzten Methoden zur Ableitung des Aminosäurebedarfs bei Nil-Tilapien

Wie aus Tab. 5.1 generell zu entnehmen ist, liegt eine geringe Zahl an Arbeiten zum Aminosäurebedarf von Nil-Tilapien vor. Die aktuellen Bedarfsempfehlungen für Nil-Tilapien (NRC 1993) beruhen auf Untersuchungen von SANTIAGO & LOVELL (1988). Diese basieren auf Dosis-Wirkungsversuchen mit einer Diät aus einer Casein-Gelatine-Mischung, bei denen die Konzentration der untersuchten Aminosäure ausgehend vom limitierenden Zustand stufenweise durch Zugabe kristalliner Aminosäuren erhöht wurde. Die kombinierte Verabreichung kristalliner und proteingebundener Aminosäuren kann negative Auswirkungen auf die Wachstumsleistung von Nil-Tilapien haben (siehe Kap. 5.2). Dennoch ist das unter Kap. 2.2.2.3.1 beschriebene Verfahren zur Feststellung des Aminosäurebedarfs in der Fischernährung grundsätzlich akzeptiert (COWEY 1992, 1994; NRC 1993; MAMBRINI & KAUSHIK 1995; WILSON 2002). SANTIAGO & LOVELL (1988) erzielten in ihren Dosis-Wirkungsexperimenten hohe Lebendmassezunahmen in einem Bereich von 0,02 bis 2g bei bedarfsdeckender Aminosäureversorgung. Experimente zum Aminosäurebedarf, in denen eine hohe Wachstumsleistung erzielt wurde, nehmen bei einer vergleichenden Betrachtung einen höheren Stellenwert ein (COWEY 1994). Hinsichtlich dieses Gesichtspunktes ist von SANTIAGO & LOVELL (1988) somit ein Kriterium für die Ableitung zuverlässiger Bedarfsangaben erfüllt worden.

Die mathematische Bestimmung der Werte zum Aminosäurebedarf erfolgte bei SANTIAGO & LOVELL (1988) mittels einer "Broken-line"-Analyse, die in einer Reihe von Untersuchungen einer nicht-linearen Anpassung der Meßwerte unterlegen war (ROBBINS et al. 1979; SHEARER 2000). Ursache hierfür ist, daß ein Großteil der Dosis-Wirkungs-Beziehungen nicht-linearer Natur ist (FINKE et al. 1987). Daraus folgt hinsichtlich dieses Aspekts, daß die aktuelle Aminosäure-Bedarfsempfehlung für Nil-

Tab. 5.1: Angaben zum Aminosäurebedarf von Nil-Tilapien und Charakteristik wichtiger methodischer Parameter

Lys (% FS)	Bedarfsangaben			Testprotein			Tiermaterial		Referenz	
	(% XP)	Met + Cys (% FS)	Thr (% FS)	Komponenten	XP-Gehalt (% FS)	LM-Abschnitt (g)	Ableitung durch:			
1,29 - 1,80	4,17 - 5,83	1,13 - 1,50	3,87 - 5,14	0,72 - 1,06	2,27 - 3,34	verschiedene Futterproteine	29-31	12 - 100	N-Verwertungsmodell	aktuelle Untersuchung
1,43	5,12	0,90	3,22	1,05	3,75	Casein, Gelatine, Aminosäuren	28	0,02 - 2	Dosis-Wirkung, "broken-line"	SANTIAGO & LOVELL (1988)
1,78	5,93	----	----	1,51	5,04	Fischmehl	30	4,1 - 27,4	Optimaler Proteinbedarf	OGUNJI (2001)
-----	5,12 ²	----	3,4	----	3,3	----	----	"Juvenile"	Ideal-Protein	FAGBENRO (2000)
1,76	8,80	----	----	----	----	Blut-, Maismehl, Aminosäuren	20	1 - 7	Dosis-Wirkung (3 Stufen)	ODUM & EJIKE (1991)

Vermerke:

¹Bezugsgrößen: LM 50g, Futteraufnahme 3% der LM pro Tag, 80%ige Ausschöpfung von $PD_{max}T$

²Referenz-Aminosäure, Bedarf nach SANTIAGO & LOVELL (1988)

Tilapien kritisch betrachtet werden sollte, solange nicht weitere Untersuchungen unter Verwendung alternativer mathematischer Modellierungen existieren.

Alle anderen in Tab. 5.1 genannten Arbeiten stellen lediglich Abschätzungen des Aminosäurebedarfs dar. Die Angaben zum Lysinbedarf von ODUM & EJIKE (1991) wurden aus einem Dosis-Wirkungsversuch mit drei unterschiedlichen Lysinkonzentrationen in einem Bereich von 1,32 - 2,04% im Futter ohne mathematische Berechnung abgeleitet. Nach COWEY (1992, 1995) sind mindestens 6 verschiedene Konzentrationsniveaus erforderlich, um eine zufriedenstellende Dosis-Wirkungsbeziehung zu erzielen.

FAGBENRO (2000) nutzte das Ideal-Protein-Konzept unter Verwendung der Referenz-Aminosäure Lysin, deren Bedarfskonzentration den Angaben von SANTIAGO & LOVELL (1988) zugrundegelegt wurde. Dieses Verfahren liefert, wie andere auf der Körperzusammensetzung beruhende Methoden auch, Hinweise zum Aminosäure-Bedarfsmuster einer Art, und in Verbindung mit einer Referenz-Aminosäure können quantitative Bedarfswerte angenähert werden (WILSON 1989, 2002). Aufgrund der Konstanz des Aminosäuremusters im Ganzkörpergewebe verschiedener Lebendmasseabschnitte bei einer Reihe von Fischarten (WILSON & POE 1985; SCHWARZ & KIRCHGESSNER 1988; KAUSHIK 1998; NGAMSNAE et al. 1999; PORTZ & CYRINO 2003), ist von keinem deutlichen Einfluß des Alters der untersuchten Nil-Tilapien auf die abgeleiteten Bedarfswerte auszugehen. Das geringe Ausmaß an interspezifischen Unterschieden in der Aminosäurezusammensetzung des Ganzkörpers bei einer vergleichenden Betrachtung mehrerer Arten (GATLIN 1987; MAMBRINI & KAUSHIK 1995; KAUSHIK 1998; PORTZ & CYRINO 2003) verdeutlicht die Vorläufigkeit der mittels dieser Methode abgeleiteten Bedarfswerte. Die von WILSON & POE (1985) an der Methode des "A/E"-Verhältnisses geäußerten Kritikpunkte können auf das Ideal-Protein-Konzept übertragen werden, denn auch hier wird weder die spezifische Metabolisierung noch der Erhaltungsbedarf einer Aminosäure berücksichtigt, sondern eine vollständige Integration der Futteramino-säuren in körpereigenes Protein vorausgesetzt.

Die von OGUNJI (2001) angegebenen Bedarfswerte basieren auf der Annahme, daß das Aminosäureprofil einer Fischmehl-enthaltenden Testdiät bei einer experimentell bestimmten, optimalen Proteinversorgung den Aminosäurebedarf einer Art reflektiert. Diese Annahme widerspricht der Definition des Aminosäurebedarfs nach dem NRC

(1993), wonach dieser als geringste Konzentration einer Aminosäure angesehen wird, die eine maximale Lebendmassezunahme bewirkt. Diese Vorgabe ist bei der von OGUNJI (2001) verwendeten Methode lediglich für die erstlimitierende Aminosäure zutreffend; der Bedarf sämtlicher anderer Aminosäuren wird überschätzt. Zu einer Fehleinschätzung des Bedarfs trägt weiterhin bei, daß kein mathematisches Verfahren zur Bestimmung des optimalen Proteinbedarfs zum Einsatz kam.

5.3.2 Vergleich der Bedarfsangaben zu den erstlimitierenden Aminosäuren

Aus einem Vergleich der Tabellen zum kalkulierten Bedarf an den untersuchten Aminosäuren (Tab. 4.7, 4.11 bzw. 4.15) wird deutlich, daß die ermittelten Bedarfswerte eine deutliche Abhängigkeit vom täglichen Proteinansatz und von der Aminosäure-Wirksamkeit des Futterproteins aufweisen. Die Bandbreite der Resultate zur Aminosäure-Wirksamkeit ist von den in der vorliegenden Studie eingesetzten Proteinquellen abhängig, so daß sich der Einbezug weiterer Futterkomponenten erweiternd auf das innerhalb eines Leistungsniveaus dargestellte Intervall auswirken könnte. Insofern ist die Variabilität der Ergebnisse zur Aminosäure-Wirksamkeit noch nicht repräsentativ, sondern ergibt sich aus den untersuchten Proteinkomponenten, die aufgrund ihrer tatsächlichen oder potentiellen Bedeutung für die Ernährung von Tilapien ausgewählt wurden.

Aus dem Spektrum der berechneten Angaben zum Aminosäurebedarf wurde in Tab. 5.1 einheitlich für jede Aminosäure auf eine 80%ige Ausschöpfung von $PD_{\max}T$ sowie eine 3%ige Futteraufnahme bei einer Lebendmasse von 50g Bezug genommen. Die Wahl eines moderaten, in einem Praxistest überprüfbareren Leistungsniveaus, begründet sich auf Untersuchungen zum maximalen theoretischen Proteinretentionsvermögen ($PD_{\max}T$) von MOHAMED (2002) unter Verwendung des in der vorliegenden Studie eingesetzten Genotyps und schließt die Empfehlung von JAUNCEY (1998) zur Futtermittellieferung von Nil-Tilapien der angegebenen Lebendmasse ein.

Der mittels dieser Vorgaben berechnete Lysinbedarf liegt in einem Intervall von 1,29 bis 1,80% des Futters bzw. beträgt 4,17 bis 5,83% des Rohproteins. Letztere Angabe ist von Vorteil, da Angaben zum Aminosäurebedarf vergleichbar werden, die bei einem unterschiedlichem Proteingehalt ermittelt wurden (NRC 1993). Sie setzt voraus, daß eine Konstanz des Aminosäure-Bedarfsmusters in Bezug zum Proteinniveau in der Diät besteht. Sowohl der Lysinbedarf nach SANTIAGO & LOVELL (1988) mit 1,43% im

Futter bzw. 5,12% des Rohproteins, als auch der von OGUNJI (2001) mit 1,78% im Futter bzw. 5,93% des Rohproteins liegt innerhalb bzw. im oberen Grenzbereich des bestimmten Intervalls. Die Bedarfsangabe nach ODUM & EJIKE (1991) liegt, bezogen auf den Proteingehalt der Testdiät, mit 8,80% deutlich über den zuvor genannten Werten. Als Ursache hierfür kommt die geringe Anzahl an getesteten Lysininstufen sowie ein geringes Proteinniveau in den Testdiäten in Frage.

Die Abschätzung des Lysinbedarfs nach OGUNJI (2001) unter Verwendung von Fischmehl zeigt tendenziell auf, daß im Vergleich zur aktuellen Bedarfsempfehlung des NRC (1993) durch die Verwendung alternativer Testproteine höhere Bedarfswerte abgeleitet werden können. Der Einsatz unterschiedlicher Testproteine trägt zur beobachteten Variabilität von aus Dosis-Wirkungs-Beziehungen abgeleiteten Bedarfsangaben bei (COWEY 1995), was die Notwendigkeit des Einbezugs von Angaben zur Aminosäure-Wirksamkeit der eingesetzten Proteinquellen unterstreicht. Inwieweit das von OGUNJI (2001) verwendete Fischmehl mit seiner im besonderen von der Verarbeitungstemperatur abhängigen Lysin-Verfügbarkeit (COWEY et al. 1972; ANDERSON et al. 1993, 1995) zu einer höheren Bedarfsabschätzung beigetragen hat, kann aufgrund der unklaren Aminosäure-Limitierungsverhältnisse nicht beantwortet werden. Tab. 4.3 zeigt in diesem Zusammenhang, daß Fischmehl-enthaltende Diäten eine tendenziell niedrige Lysin-Wirksamkeit aufweisen, die einen höheren kalkulierten Lysinbedarf bedingen. Futtermischungen, die einen geringen N-Ansatz von $\leq 55 \text{ mg N/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ erzielen, sind nach Abb. 4.1 nicht geeignet, eine Lysin-Wirksamkeit abzuleiten, da diese nahe des Erhaltungsstoffwechsels ermittelt wurde und somit eine physiologische Extremsituation widerspiegelt (BENKENDORFF et al. 2003a).

Insgesamt deuten die kalkulierten Werte zum Lysinbedarf von Nil-Tilapien darauf hin, daß unter intensiven Produktionsbedingungen und beim Einsatz von Proteinquellen mit einer geringen Lysinwirksamkeit ein höherer Bedarf an dieser Aminosäure besteht, als derzeit empfohlen wird (BENKENDORFF et al. 2003b).

Der Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren von Nil-Tilapien wird nach Tab. 5.1 durch die vorliegende Untersuchung mit 1,13 bis 1,50% im Futter bzw. 3,87 bis 5,14% des Rohproteins deutlich höher angegeben als in den Studien von SANTIAGO & LOVELL (1988) mit 0,90 bzw. 3,22% sowie von FAGBENRO (2000) mit 3,4% vom Rohproteingehalt. Bei diesem Vergleich muß berücksichtigt werden, daß die letztge-

nannten Studien nicht unabhängig voneinander sind, da FAGBENRO (2000) auf den Bedarf an der Referenz-Aminosäure Lysin aus der vorgenannten Untersuchung Bezug nimmt. Ferner basiert in der vorliegenden Untersuchung das angegebene Intervall lediglich auf der Wirksamkeit schwefelhaltiger Aminosäuren in Sojaproteinen, so daß noch keine Aussage zur Variabilität dieses Parameters unter Berücksichtigung anderer wichtiger Futterkomponenten (Fischmehl) getroffen werden kann.

Der Befund, daß für die Diäten FM-Met und R-Met, die neben Sojaextraktionsschrot Fischmehl bzw. Rapsextraktionsschrot beinhalten, keine Limitation nachweisbar war, weist bei einer mit den auf Sojaproteinen basierenden Diäten vergleichbaren Methionin-Bedarfsdeckung (vergl. Tab. 3.12) auf eine deutlich höhere Wirksamkeit der schwefelhaltigen Aminosäuren in diesen Futtermitteln und damit auf einen niedrigeren Wert für den abgeleiteten Bedarf hin. Der höhere Gehalt der Diät R-Met an der Aminosäure Cystin, die einen Teil der essentiellen Aminosäure Methionin ersetzen kann (HARDING et al. 1977; WILSON 1985), kommt nicht als Ursache für die beobachtete Bedarfsdeckung in Betracht. Nach ABDELGHANY (2000) kann Methionin durch Cystin bei Nil-Tilapien bis zu einem Verhältnis von M: C = 1: 0,58 im Futter ersetzt werden. Ein höheres M:C-Verhältnis, wie bei der Diät R-Met mit 1: 0,90 vorzufinden, trägt somit nicht zu einer verbesserten Versorgung mit schwefelhaltigen Aminosäuren bei. Das von ABDELGHANY (2000) bestimmte M: C-Verhältnis von 58: 42 auf equimolarer Schwefelbasis liegt im Bereich der für andere Fischarten bestimmten Verhältnisse (vergl. Tab. 5.2).

Tab. 5.2: Optimales M: C-Verhältnis in Diäten für verschiedene Fischarten

M: C-Verhältnis ¹	Fischart	Referenz
40: 60	Nordamerikanischer Wels	HARDING et al. (1977)
58: 42	Regenbogenforelle	KIM et al. (1992b)
60: 40	<i>Sciaenops ocellatus</i>	MOON & GATLIN (1991)
60: 40	Hybrid-Streifenbarsch (<i>Morone saxatilis</i> X <i>M. chrysops</i>)	GRIFFIN et al. (1994b)
49: 51	Gelbbarsch (<i>Perca flavescens</i>)	TWIBELL et al. (2000)

¹auf equimolarer Schwefelbasis

Der Methionin-Spareffekt durch Cystin wirkt sich abschwächend auf das in Tab. 3.12 kalkulierte Niveau der Methioninlimitation aus, da SANTIAGO & LOVELL (1988) ein M: C-Verhältnis von 1: 0,20 verwendeten, das einen niedrigeren Methioninbedarf bei verbesserter Cystinversorgung bedingt. Die hohe Cystinkonzentration in den in der vor-

liegenden Studie verwendeten Sojaproteinen könnte eine mögliche Ursache für eine erhöhte Bedarfsableitung für die schwefelhaltigen Aminosäuren darstellen, da diese zu einer Unterschätzung der ermittelten Aminosäure-Wirksamkeit führt.

Der auf der Grundlage der einleitend angegebenen Parameter kalkulierte Threoninbedarf liegt nach Tab. 5.1 in einem Intervall von 0,72 bis 1,06% im Futter bzw. beträgt 2,27 bis 3,34% des Rohproteins. Es schließt somit den von FAGBENRO (2000) anhand des Ideal-Proteins von Nil-Tilapien aufgestellten Wert von 3,3% des Rohproteins ein. Die Empfehlung des NRC (1993) zum Threoninbedarf liegt mit 3,75% des Rohproteins etwas oberhalb des in der vorliegenden Arbeit berechneten Bereichs. Deutlich höher wird der Threoninbedarf mit 1,51% im Futter bzw. 5,04% des Rohproteins durch OGUNJI (2001) angegeben. Dieses könnte auf die methodisch bedingte Überschätzung des Aminosäurebedarfs zurückzuführen sein.

Zusammenfassend betrachtet liegen die nach dem N-Verwertungsmodell nach GEBHARDT (1966) und seiner Weiterentwicklung (LIEBERT & GEBHARDT 1986) für unterschiedliche Werte zu Aminosäure-Wirksamkeit und Leistungsniveaus kalkulierten Aminosäure-Bedarfswerte in der Größenordnung der bisher publizierten Angaben zum Aminosäurebedarf von Nil-Tilapien. Die berechneten Werte zu einer moderaten 80%igen Ausschöpfung von $PD_{\max}T$ bei einer durchschnittlichen Lebendmasse von 50g sowie einer täglichen Futteraufnahme von 3% von LM liegen mit Ausnahme des Bedarfs an schwefelhaltigen Aminosäuren im Bereich der derzeitigen Bedarfsempfehlung für Nil-Tilapien. Daraus folgt, daß zur Erzielung höherer Wachstumsleistungen, besonders in Verbindung mit dem Einsatz von Proteinquellen mit einer niedrigen Aminosäure-Wirksamkeit, ein über der aktuellen Bedarfsempfehlung liegender Bedarf an Lysin und Threonin angenommen werden muß. Der Vorteil des verwendeten Modells besteht darin, daß tier- (Genotyp, Geschlecht, Lebendmasse) wie futterspezifische (Aminosäure-Wirksamkeit) Parameter berücksichtigt werden und eine differenziertere Bedarfsempfehlung ermöglichen, als bisherige Modelle in der Fischernahrung. Die von COWEY (1994) diskutierte Variabilität von in verschiedenen Laboratorien aufgestellten Aminosäure-Bedarfswerten für Regenbogenforellen könnte durch eine experimentelle Untersuchung unter Einbezug des verwendeten N-Verwertungsmodells neu bewertet werden.

5.4 Schlußfolgerungen

Die in der vorliegenden Arbeit diskutierten Ergebnisse weisen auf weiteren Forschungsbedarf in folgenden Punkten hin:

1. Verringerung der Variabilität abgeleiteter Parameter zur Aminosäure-Wirksamkeit bei Nil-Tilapien im Rahmen des Differenzverfahrens durch eine Erhöhung der Zahl der Wiederholungen einer Behandlung (>4) bzw. durch eine Erhöhung der Gruppengröße
2. Überprüfung der kalkulierten Aminosäure-Bedarfswerte im Leistungsversuch unter dem Aspekt, ob der angestrebte Proteinansatz in Abhängigkeit von der Aminosäure-Wirksamkeit einer Proteinträgermischung realisiert werden kann und damit Verifizierung der Praxisrelevanz des abgeleiteten Aminosäurebedarfs
3. In Anlehnung an Punkt 2 Überprüfung der Rationsformulierung auf der Basis wirksamer Aminosäuren für einzelne Proteinquellen
4. Ermittlung von Angaben zur Aminosäure-Wirksamkeit und Kalkulation des korrespondierenden leistungsabhängigen Aminosäurebedarfs unter Einbezug verschiedener Futterproteinmischungen für weitere omnivore Fischarten wie z. B. dem domestizierten und weniger zu inter-individueller Aggression neigenden Spiegelkarpfen
5. Überprüfung der Angaben zum N-Erhaltungsbedarf bei Tilapien

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Untersuchung diente der Ermittlung der Aminosäure-Wirksamkeit von Lysin, Methionin/Cystin und Threonin in verschiedenen Proteinträgermischungen als Grundlage für die Kalkulation von leistungs- und wirksamkeitsbezogenen Angaben zum Aminosäurebedarf von Nil-Tilapien.

Dazu wurden vier achtwöchige Wachstumsversuche mit männlichen Nil-Tilapien (*Oreochromis niloticus*) mit einem Anfangsgewicht von ca. 12 g in zwei Warmwasser-Kreislaufanlagen des Instituts für Tierphysiologie und Tierernährung, Göttingen, durchgeführt. In allen Versuchen kamen weitgehend isonitrogene und isokalorische Diäten mit einem Proteingehalt von 33-34% TS und einem umsetzbaren Energiegehalt von 15-17 MJ/kg TS zum Einsatz. Die Auswahl geeigneter Proteinquellen umfaßte sowohl häufig in der Ernährung von Tilapien verwendete, als auch potentiell einsetzbare einheimische Futterkomponenten. Diese wurden so kombiniert, daß entweder nativ oder mit Hilfe einer Supplementation mit kristallinen Aminosäuren eine Limitation der untersuchten Aminosäuren erzeugt wurde. Der Nachweis einer erfolgreichen Limitierung erforderte jeweils den Einsatz einer zusätzlichen Diät, in der die defizitäre Aminosäure supplementiert wurde.

Auf der Grundlage dieser Konzeption wurden Lysin-, Methionin/Cystin- bzw. Threonin-limitierte Diäten dreimal täglich bis zur scheinbaren Sättigung an Versuchsgruppen im Rahmen von vier Wiederholungen verabreicht und nach Versuchsende der Stickstoffansatz mittels vergleichender Ganzkörperanalyse ermittelt. Eine weitere Gruppe erhielt die mit der jeweils defizitären Aminosäure ergänzte Diät und wurde nach Beendigung des Versuchs ebenfalls einer Ganzkörperanalyse unterzogen. In Verbindung mit den ermittelten Werten zur Stickstoffaufnahme wurden die Daten unter Anwendung eines exponentiellen N-Verwertungsmodells (GEBHARDT 1966; LIEBERT & GEBHARDT 1986) ausgewertet und die Wirksamkeit der erstlimitierenden Aminosäuren in den Diäten ermittelt. Unter Einbezug von Vorgaben zur Ausschöpfung des maximalen theoretischen Stickstoffretentionsvermögens ($PD_{\max}T$) von Nil-Tilapien von $497 \text{ mg N/LM}_{\text{kg}}^{0,67}/\text{d}$ (MOHAMED 2002) wurden Bedarfswerte für die untersuchten Aminosäuren kalkuliert.

Folgende Resultate wurden erzielt:

Aminosäure-Wirksamkeit

Ein Großteil der ermittelten Lysin-Wirksamkeit lag in einem Bereich von 537 bis 714, wobei eine extrem hohe Lysin-Wirksamkeit von bis zu 1669 in Verbindung mit einem sehr niedrigen Stickstoffansatz und damit im Bereich des Stickstofferhaltungsbedarfs beobachtet wurde und keine Berücksichtigung bei der Bestimmung des Aminosäurebedarfs fand. Eine "broken-line"-Analyse der Daten zur Lysin-Wirksamkeit zeigte, daß ein täglicher N-Ansatz von $55 \text{ mg N/LM}_{\text{kg}}^{0,67}$ den Bereich einer physiologischen Extremsituation abgrenzte. Für eine Sojaflakes-beinhaltende Mischung wurde beobachtet, daß eine Reduktion der Trypsin-Inhibitorkonzentration durch ein hydrothermisches Behandlungsverfahren zu einer Erhöhung des N-Ansatzes sowie einer Senkung der Lysin-Wirksamkeit führte.

Die Lysin-Wirksamkeit erbsenhaltiger Futtermischungen variierte zwischen 569 und 623, wobei keine signifikanten Unterschiede bei der Verwendung verschiedener Erbsen-Chargen oder durch eine hydrothermische Behandlung der Erbsen gefunden wurden.

Ein Einfluß unterschiedlicher Besatzdichten auf die Ermittlung der Lysin-Wirksamkeit konnte nicht festgestellt werden.

Die Methionin/Cystin-Wirksamkeit von verschiedenen Sojaproteinen variierte in einem Bereich von 654 und 747. Für Proteinträgermischungen, die auf Kombinationen von Soja- und Nicht-Sojaproteinen basierten, konnte keine Limitanz der schwefelhaltigen Aminosäuren nachgewiesen werden. Ein im Vergleich zum Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren hoher Methionin/Cystingehalt in den verwendeten Nicht-Sojaproteinen verbunden mit einem hohen Austauschvermögen von Cystin gegenüber Methionin bei Nil-Tilapien führten zu diesem Ergebnis.

Eine Threonin-Wirksamkeit von 892 bis 1202 wurde für die untersuchten Threonin-limitierten Futtermischungen ermittelt.

Ableitungen zum Aminosäurebedarf

Die Modellkalkulationen zum Lysin-, Methionin/Cystin- und Threoninbedarf von Nil-Tilapien wurden auf der Basis eines Intervalls der Aminosäure-Wirksamkeit durchge-

führt, das die in den Proteinträgermischungen bestimmten Werte umfaßte. Auf Berechnungen zum Aminosäurebedarf unter Berücksichtigung der Aminosäure-Wirksamkeit einzelner Proteinquellen wurde verzichtet, da eine hohe Streuung der Werte infolge der Anwendung des Differenzverfahrens beobachtet wurde. Ursächlich hierfür war die Variabilität der Aminosäure-Wirksamkeit der miteinander verrechneten Futtermischungen, die im Rahmen dieses Verfahrens gemeinsam auf die Aminosäure-Wirksamkeit des einzelnen Proteinträgers übertragen wurde.

Die abgeleiteten Werte zum täglichen Aminosäurebedarf bezogen sich auf eine Ausschöpfung von $PD_{\max}T$ von 60-90% und lagen in einem Bereich von:

- 82-288 mg Lys/ $LM_{kg}^{0,67}$ bei einer Lys-Wirksamkeit zwischen 500 und 700
- 72-240 mg Met+Cys/ $LM_{kg}^{0,67}$ bei einer Met/Cys-Wirksamkeit zwischen 600 und 800
- 46-169 mg Thr / $LM_{kg}^{0,67}$ bei einer Thr-Wirksamkeit zwischen 850 und 1250.

Danach benötigte eine Nil-Tilapie einer mittleren Lebendmasse von 50 g zur Realisierung eines täglichen Proteinansatzes von 116-241 mg/d eine Zufuhr von jeweils 11-39 mg Lys/d, 10-32 mg Met+Cys/d sowie 6-23 mg Thr/d.

Bei einer täglichen Futteraufnahme von 3% der Lebendmasse ergaben sich notwendige Aminosäurekonzentrationen im Futter von 0,73-2,58% Lysin, 0,64-2,15% Methionin/Cystin und 0,41-1,52% Threonin.

Das eingesetzte N-Verwertungsmodell lieferte leistungs- und aminosäurewirksamkeitsabhängige Werte zum Bedarf an erstlimitierenden Aminosäuren von Nil-Tilapien in praxisrelevanten Proteinträgermischungen, die im Vergleich zu existierenden Literaturwerten wesentlich differenziertere Angaben gestatteten. Eine Voraussetzung für die zukünftige flexible Gestaltung von Rationen für Tilapien auf der Basis wirksamer Aminosäuren in einzelnen Proteinquellen stellt die Verringerung der Variabilität der ermittelten Aminosäure-Wirksamkeit auf <10% der Standardabweichung dar.

7 Summary

The objective of this investigation was to determine the amino acid efficiency of lysine, methionine/cystine and threonine in different mixtures of protein sources as a basis for the derivation of the amino acid requirement of Nile tilapia depending on performance and amino acid efficiency.

Four growth trials with male Nile tilapia of approximately 12 g live weight lasting eight weeks, respectively, were carried out in two warmwater recirculation units accommodated by the institute for animal physiology and animal nutrition, Göttingen/Germany. The experimental diets were formulated to be isonitrogenous and isocaloric with a protein content of 33-34% in dry matter and a metabolizable energy content of 15-17 MJ/kg dry matter. The selection of protein sources comprised either in the nutrition of tilapia frequently employed or potentially utilizable feed components. A limitation of the respective amino acid was generated through the combination of protein sources partly supplemented with crystalline amino acids. The realization of a successful limitation was proven through feeding an additional diet supplemented with the amino acid under investigation.

On the basis of this conception lysine-, methionine/cystine- and threonine-limiting diets were administered to the experimental groups including four repetitions three times daily until apparent satiation. An additional tank received the respective diet with a supplement of the deficient amino acid. At the end of the growth trial nitrogen deposition was determined by comparative whole-body analysis. An exponential N-utilization model (GEBHARDT 1966; LIEBERT & GEBHARDT 1986) was utilized to calculate the efficiency of the first limiting amino acid of the test diets on the basis of data referring to nitrogen intake and nitrogen deposition. Including different performance levels which were expressed as percentage of the maximum theoretical N-retention capacity ($PD_{\max}T$) of Nile tilapia with $497 \text{ mg N/LW}_{\text{kg}}^{0.67}/\text{d}$ (MOHAMED 2002) the respective amino acid requirement was derived.

The following results were obtained:

Amino acid efficiency

The majority of lysine efficiency data varied between 537 and 714. An extremely high lysine efficiency up to 1669 was observed in combination with a substantially low N-deposition reflecting conditions at the nitrogen maintenance requirement. A broken-line analysis of the lysine efficiency values indicated that a daily N-deposition of 55 mg N/LW_{kg}^{0.67} demarcated conditions of a physiologically extreme situation leading to the exclusion of high values for the determination of amino acid requirement. The inclusion of heat conditioned soybean flakes in a test diet resulted in the reduction of trypsin inhibitor concentration in conjunction with an increase in N-deposition and a decrease in lysine efficiency.

The lysine efficiency of feed mixtures containing pee meal varied between 569 and 623. Neither the feed batch nor heat conditioning of the pee meal had a significant effect on the resulting lysine efficiency.

Different stocking densities of Nile tilapia exerted no influence on lysine efficiency.

The methionine/cystine efficiency of different soy proteins fluctuated between 654 and 747. Protein mixtures which based on combinations of soy and non-soy proteins were not limiting in sulfur containing amino acids. The underlying reasons for this observation were a high methionine/cystine content of non-soy proteins in comparison to the requirement for sulfur containing amino acids and a high potential for methionine sparing of cystine in Nile tilapia.

The threonine efficiency of the threonine-limiting feed mixtures indicated values between 892 and 1202.

Derivations of amino acid requirement

Model calculations for the lysine-, methionine/cystine- and threonine-requirement of Nile tilapia were carried out in reference to the intervals of amino acid efficiency which were previously determined for the mixtures of protein sources. Derivations of the amino acid requirement based on the amino acid efficiency of single protein sources were rejected because of a high standard deviation of values caused by the application of the difference method. This procedure implied that the variability of the original

amino acid efficiency of the feed mixtures was jointly transferred to the derived amino acid efficiency of the single protein carrier.

The calculated daily amino acid requirement referred to a performance level of 60-90% of $PD_{\max}T$ was in the range of:

- 82-288 mg Lys/ $LW_{kg}^{0.67}$ at a lysine-efficiency between 500 and 700
- 72-240 mg Met+Cys/ $LW_{kg}^{0.67}$ at a methionine/cystine-efficiency between 600 and 800
- 46-169 mg Thr/ $LW_{kg}^{0.67}$ at a threonine-efficiency between 850 and 1250.

Accordingly a Nile tilapia with a mean live weight of 50 g required a supply of 11-39 mg Lys/d, 10-32 mg Met+Cys/d and 6-23 mg Thr/d, respectively, for the realization of a daily protein deposition of 116-241 mg/d.

On the assumption of a daily feed intake of 3% of live weight the corresponding amino acid concentrations in the diet amounted to 0.73-2.58% lysine, 0.64-2.15% methionine/cystine and 0.41-1.52% threonine.

The employed N-utilization model delivered data on the requirement of first limiting amino acids of Nile tilapia in mixtures of protein carriers for practical purposes depending on performance and amino acid efficiency which in comparison to existing values in literature allowed more differentiated estimates. A reduction of the variability of derived data on amino acid efficiency to less than 10% of standard deviation represents a prerequisite for a flexible composition of rations for tilapia on the basis of the amino acid efficiency of single protein sources.

8 Literaturverzeichnis

- ABBOTT, J.C. & DILL, L.M. (1989): The relative growth of dominant and subordinate juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*) fed equal rations. *Behav.* **108**, 104-113.
- ABDELGHANY, A.E. (1986): Optimum protein requirements and optimum ratio between animal protein to plant protein in formulated diets for Nile Tilapia, (*Tilapia nilotica* L.). Ph.D. dissertation, Department of Fisheries Resources, University of Idaho, Moscow, Idaho, USA.
- ABDELGHANY, A.E. (2000): Replacement value of cystine for methionine in semi purified diets supplemented with free amino acids for the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L. fry. In: *Proceedings of the Fifth International Symposium on Tilapia Aquaculture*, Vol. 1, pp. 109-119. SRG, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- AHMED, I., KHAN, M.A. & JAFRI, A.K. (2003): Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture International* **11**, 449-462.
- AKIYAMA, T., OOHARA, I. & YAMAMOTO, T. (1997): Comparison of essential amino acid requirements with A/E ratio among fish species. *Fish. Sci.* **63**, 963-970.
- ANDERSON, J.S, LALL, S.P., ANDERSON, D.M. & MCNIVEN, M.A. (1993): Evaluation of protein quality in fish meals by chemical and biological assays. *Aquaculture* **115**, 305-325.
- ANDERSON, J.S, LALL, S.P., ANDERSON, D.M. & MCNIVEN, M.A. (1995): Availability of amino acids from various fish meals fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **138**, 291-301.
- ARAI, S. (1981): A purified test diet for Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fry. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **47**, 547-550.

- ARAI, S., NOSE, T. & HASHIMOTO, Y. (1972): Amino acids essential for the growth of eels, *Anguilla anguilla* and *Anguilla japonica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **38**, 753-759.
- BENKENDORFF, K., LIEBERT, F. & PORTZ, L. (2003b): Model calculation for lysine requirement of *Oreochromis niloticus* corresponding to growth capacity and efficiency of lysine. In: World Aquaculture 2003. *Book of abstracts*, vol. 1, pp. 94.
- BENKENDORFF, K., PORTZ, L. & LIEBERT, F. (2003a): Influence of level of N-deposition of lysine efficiency in diets for Nile-Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **12**, 91.
- BERGE, G.E., LIED, E. & ESPE, M. (1994): Absorption and incorporation of dietary free and protein bound (U¹⁴C)-lysine in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.* **109A**, 681-688.
- BERGE, G.E., LIED, E. & SVEIER, H. (1997): Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*): the requirement and metabolism of arginine. *Comp. Biochem. Physiol.* **117A**, 501-509.
- BERGE, G.E., SVEIER, H. & LIED, E. (1998): Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*): the requirement and metabolic effect of lysine. *Comp. Biochem. Physiol.* **120A**, 477-485.
- BORLONGAN, I.G. (1991): Arginin and threonin requirements of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) juveniles. *Aquaculture* **93**, 313-322.
- BORLONGAN, I.G. & BENITEZ, L.V. (1990): Quantitative lysine requirement of milkfish (*Chanos chanos*) juveniles. *Aquaculture* **87**, 341-347.
- CARR, W.E.S., NETHERTON, J.C., GLEESON, R.A. & DERBY, C.D. (1996): Stimulants of feeding behaviour in fish: analyses of tissues of diverse marine organisms. *Biological Bulletin* **190**, 149-160.

- CARTER, C.G. & BRAFIELD, A.E. (1991): The bioenergetics of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.): energy allocation at different planes of nutrition. *J. Fish Biol.* **39**, 873-887.
- CARTER, C.G. & BRANSDEN, M.P. (2001): Relationships between protein-nitrogen flux and feeding regime in greenback flounder, *Rhombosolea tapirina* (Günther). *Comp. Biochem. Physiol.* **130**, 799-807.
- CARTER, C.G., HOULIHAN, D.F., KIESSLING, A., MÉDALE, F. & JOBLING, M. (2001): Physiological effects of feeding. In: HOULIHAN, D., BOUJARD, T. & JOBLING, M. (eds.). *Food intake in fish*. Blackwell Science, Oxford, pp. 297-331.
- CARTER, C.G., HOULIHAN, D.F., MCCARTHY, I.D. & BRAFIELD, A.E. (1992): Variation in the food intake of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.), fed single or in groups. *Aquatic Liv. Resour.* **5**: 225-228.
- CARTER, C.G., HE, Z.Y, HOULIHAN, D.F., MCCARTHY, I.D. & DAVIDSON, I. (1995): Effect of feeding on the tissue free amino acid concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)). *Fish Physiol. Biochem.* **14**, 153-164.
- CARTER, C.G., HOULIHAN, D.F. & HE, Z-Y. (2000): Changes in tissue free amino acid concentrations in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., after consumption of a low ration. *Fish Physiol. Biochem.* **23**, 295-306.
- CARTER, C.G., HOULIHAN, D.F., BRECHIN, J. & MCCARTHY, I.D. (1993a): The relationships between protein intake and protein accretion, synthesis and retention efficiency for individual grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Vallenciennes). *Can. J. Zool.* **71**, 392-400.
- CARTER, C.G., HOULIHAN, D.F., BUCHANAN, B. & MITCHELL, A.I. (1993b): Protein-nitrogen flux and protein growth efficiency of individual Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiol. Biochem.* **12**, 305-315.

- CARTER, C.G., HOULIHAN, D.F. & OWEN, S.F. (1998): Protein synthesis, nitrogen excretion and long-term growth of juvenile *Pleuronectes flesus*. *J. Fish Biol.* **53**, 272-284.
- CARTER, C.G., OWEN, S.F., HE, Z-Y., WATT, P.W., SCRINGEOUR, C., HOULIHAN, D.F. & RENNIE, M.S. (1994): Determination of protein synthesis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using a stable isotope. *J. Exp. Biol.* **189**, 279-284.
- CARUSO, D. & LAZARD, J. (1999): Subordination stress in Nile tilapia and its effect on plasma lysozyme activity. *J. Fish Biol.* **55**, 451-454.
- CHANCE, R.E., MERTZ, E.T. & HALVER, J.E. (1964): Nutrition of salmonoid fishes. XII. Isoleucine, leucine, valine and phenylalanine requirements of chinook salmon and interrelations between isoleucine and leucine for growth. *J. Nutr.* **83**, 177-185.
- CHO, C.Y., KAUSHIK, S.J. & WOODWARD, B. (1992): Dietary arginine requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.* **102A**, 211-216.
- CONCEICAO, L.E.C., VAN DER MEVEN, T., VERRETH, J.A.J., EVJEN, M.S., HOULIHAN, D.F. & FYHN, H.J. (1997): Amino acid metabolism and protein turnover in larval turbot (*Scophthalmus maximus*) fed natural zooplankton or *Artemia*. *Marine Biology* **129**, 255-265.
- COWEY, C.B. (1992): Nutrition: estimating requirements of rainbow trout. *Aquaculture* **100**, 177-189.
- COWEY, C.B. (1994): Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture* **124**, 1-11.
- COWEY, C.B. (1995): Protein and amino acid requirements: a critique of methods. *J. Appl. Ichthyol.* **11**, 199-204.

- COWEY, C.B., ADRON, J.W. & BLAIR, A. (1970): Studies on the nutrition of marine flat fish: requirements of plaice and sole. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* **50**, 87-95.
- COWEY, C.B., CHO, C.Y., SIVAK, J.G., WEERHEIM, J.A. & STUART, D.D. (1992): Methionine intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), relationship to cataract formation and the metabolism of methionine. *J. Nutr.* **122**, 1154-1163.
- COWEY, C.B., POPE, J.A., ADRON, J.W. & BLAIR, A. (1972): Studies on the nutrition of marine flat fish. The protein requirements of plaice. *Br. J. Nutr.* **28**, 447-456.
- COWEY, C.B. & WALTON, M.J. (1988): Studies on the uptake of (¹⁴C)-amino acids derived from both dietary (¹⁴C) protein and dietary (¹⁴C) amino acids by rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* **33**, 293-305.
- DABROWSKI, K.R. (1981): Tryptophan requirement of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkde* **46**, 64-71.
- DABROWSKI, K.R. (1982): Postprandial distribution of free amino acids between plasma and erythrocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* **72A**, 753-763.
- DABROWSKI, K.R. (1986): Ontogenical aspects of nutritional requirements in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* **85A**, 639-655.
- DABROWSKI, K. & GUDERLEY, H. (2002): Intermediary metabolism. In: HALVER, J.E. & HARDY, R.W. (eds.). *Fish Nutrition*. 3rd edition. Elsevier Science, USA. pp. 309-365.
- DEGUSSA, (1997): AminoDat TM 1.1, CD-Rom.
- DE LA HIGUERA, M., AKHARBACH, H., HIDALGO, M.C., PERAGÓN, J., LUPIÁÑEZ, J.A. & GARCÍA-GALLEGO, M. (1999): Liver and white muscle protein turnover rates in the European eel (*Anguilla anguilla*): effects of dietary protein quality. *Aquaculture* **179**, 203-216.

- DE LA HIGUERA, M., GARZÓN, A., HIDALGO, M.C., PERAGÓN, J., CARDENETE, G. & LUPIÁÑEZ, J.A. (1998): Influence of temperature and dietary-protein supplementation either with free or coated lysine on the fractional protein-turnover rates in the white muscle of carp. *Fish Physiol. Biochem.* **18**, 85-95.
- DE LONG, D.C, HALVER, J.E. & MERTZ, E.T. (1958): Nutrition of salmonoid fishes. VI. Protein requirements of chinook salmon at two water temperatures. *J. Nutr.* **65**, 589-599
- DE LONG, D.C, HALVER, J.E. & MERTZ, E.T. (1962): Nutrition of salmonid fishes. X. Quantitative threonine requirements of chinook salmon at two water temperatures. *J. Nutr.* **76**, 174-178.
- DE SILVA, S.S. & ANDERSON, T.A. (1995): *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman & Hall, London, 319 pp.
- DOBLY, A., MARTIN, S.A.M., BLANEY, S.C. & HOULIHAN, D.F. (2004): Protein growth rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is negatively correlated to liver 20S proteasome activity. *Comp. Biochem. Physiol.* **137A**, 75-85.
- DUMAS, (1990): Methode zur Bestimmung von Stickstoff (N). In: Foss Heraeus Analysensysteme GmbH, Betriebsanleitung für Stickstoffanalysator "macro N", (Kap.5).
- DUPREE, H.K. & HALVER, J.E. (1970): Amino acids essential for the growth of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Trans. Am. Fish. Soc.* **99**, 90-92.
- EL-SAYED, A.M. (1999): Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. *Aquaculture* **179**, 149-168.
- ESPE, M. & LIED, E. (1994): Do Atlantic salmon (*Salmo salar*) utilize mixtures of free amino acids to the same extent as intact protein sources for muscle protein synthesis? *Comp. Biochem. Physiol.* **107A**, 249-254.

- ESPE, M., LIED, E. & TORRISEN, K.R. (1993): Changes in plasma and muscle free amino acids in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during absorption of diets containing different amounts of hydrolysed cod muscle protein. *Comp. Biochem. Physiol.* **105A**, 555-562.
- FAGBENRO, O.A. (2000): Validation of the essential amino acid requirement of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Lineaus 1758), assessed by the ideal protein concept. In: *Proceedings of the Fifth International Symposium on Tilapia Aqualculture*, Vol. 1, pp. 154-156. SRG, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
- FAO (2004): Yearbooks of Fishery Statistics. Summary tables 2002 [A-6. World aquaculture production of fish, crustaceans, molluscs, etc., by principal species in 2002], <http://www.fao.org/>.
- FAUCONNEAU, B. (1984): The measurement of whole body protein synthesis in larval and juvenile carp (*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Physiol.* **78B**, 845-890.
- FAUCONNEAU, B. (1985): Protein synthesis and protein deposition in fish. In: COWEY, C.B., MACKIE, A.M. & BELL, J.C. (eds.). *Nutrition and feeding in fish*. Academic Press, London, pp. 17-45.
- FAUCONNEAU, B., AGUIRRE, P., DABROWSKI, K. & KAUSHIK, S.J. (1986): Rearing of sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) larvae. 2. Protein metabolism: influence of fasting and diet quality. *Aquaculture* **51**, 117-131.
- FAUCONNEAU, B. & ARNAL, M. (1985): *In vivo* protein synthesis in different tissues and the whole body of rainbow trout (*Salmo gairdnerii* R.). Influence of environmental temperature. *Comp. Biochem. Physiol.* **82A**, 179-187.
- FAUCONNEAU, B., BREQUE, J. & BIELLE, C. (1989): Influence of feeding on protein metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* **79**, 29-36.

- FAUCONNEAU, B., GRAY, C. & HOULIHAN, D.F. (1995): Assessment of individual protein turnover in three muscle types of rainbow trout. *Comp. Biochem. Physiol.* **111B**, 45-51.
- FISHELSON, L. (1984): Social behaviour of adult tilapia in nature and captivity. In: FISHELSON, L. & YARON, Z. (eds.). *Proceedings of the First International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. Tel Aviv, Tel Aviv University, pp. 48-58.
- FINKE, M.D., DEFOLIART, G.R. & BENEVENGA, N.J. (1987): Use of simultaneous curve fitting and a four-parameter logistic model to evaluate the nutritional quality of protein sources at growth rates of rats from maintenance to maximum gain. *J. Nutr.* **117**, 1681-1688.
- FIOGBÉ, E.D. & KESTEMONT, P. (1995): An assessment of the protein and amino acid requirements in goldfish (*Carassius auratus*) larvae. *J. Appl. Ichthyol.* **11**, 282-289.
- FOSTER, A.R., HOULIHAN, D.F., HALL, S.J. & BURREN, L.J. (1992): The effects of temperature acclimation on protein synthesis rates and nucleic acid content of juvenile cod (*Gadus morhua* L.). *Can. J. Zool.* **70**, 2095-2102.
- FORSTER, I. & OGATA, H.Y. (1998): Lysine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and juvenile red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture* **161**, 131-142.
- GARLICK, P.J., MCNURLAND, M.A. & PREEDY, V.R. (1980): A rapid and convenient technique for measuring the rate of protein synthesis in tissues by injection of [³H]-phenylalanine. *Biochem. J.* **192**, 719-723.
- GARZÓN, A. (1995): Influencia de la encapsulación de la lisina sobre la utilización nutritiva de la proteína de gluten y recambio proteico en la trucha (*O. mykiss*) y en la carpa (*C. carpio*). PhD thesis, University of Granada, Spain.

- GARZÓN, A., PERAGÓN, J., HIDALGO, M.C., CARDENETE, G., LUPIÁÑEZ, J.A. & DE LA HIGUERA, M. (1994): Influence of dietary lysine availability on the fractional rates of protein synthesis and degradation in liver and white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **124**, 61-66.
- GATLIN III, D.M. (1987): Whole-body amino acid composition and comparative aspects of amino acid nutrition of the goldfish, golden shiner and fathead minnow. *Aquaculture* **60**, 223-229.
- GEBHARDT, G. (1966): Die Bewertung der Eiweißqualität von Nahrungs- und Futtermitteln mit Hilfe des N-Bilanzversuches. In: HOCK, A. (ed.): *Vergleichende Ernährungslehre des Menschen und seiner Haustiere*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, pp. 323-348.
- GEBHARDT, G. (1980): Eiweiß- und Aminosäurenverwertung in Beziehung zum Stoffwechsel der limitierenden Aminosäuren. *Arch. Tierernähr.* **30**, 63-71.
- GÓMES-REQUENI, P., MINGARRO, M., CALDUCH-GINER, J.A., MÉDALE, F., MARTIN, S.A.M., HOULIHAN, D.F., KAUSHIK, S. & PÉRES-SÁNCHEZ, J. (2004): Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* **232**, 493-510.
- GRIFFIN, M.E., BROWN, P.B. & GRANT, A.L. (1992): The dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass. *J. Nutr.* **122**, 1332-1337.
- GRIFFIN, M.E., WHITE, M.R. & BROWN, P.B. (1994b): Total sulfur amino acid requirement and cysteine replacement value for juvenile hybrid striped bass (*Morone saxatilis* x *M. chrysops*). *Comp. Biochem. Physiol.* **108A**, 423-429.
- GRIFFIN, M.E., WILSON, K.A. & BROWN, P.B. (1994a): Dietary arginine requirement of juvenile hybrid striped bass. *J. Nutr.* **124**, 888-893.

- HALVER, J.E. (1957): Nutrition of salmonoid fishes. IV. An amino acid test diet for chinook salmon. *J. Nutr.* **62**, 245-252.
- HALVER, J.E. (1989): *Fish Nutrition*. School of fisheries, University of Washington, Seattle, Washington. Academic Press, San Diego, New York, 798 pp.
- HALVER, J.E., DELONG, D.C. & MERTZ, E.T. (1957): Nutrition of salmonoid fishes. V. Classification of essential amino acids for chinook salmon. *Fed. Proc.* **16**, 1873 (Abstract).
- HALVER, J.E., DELONG, D.C. & MERTZ, E.T. (1958): Threonine and lysine requirements of chinook salmon. *Fed. Proc.* **17**, 1873 (Abstract).
- HALVER, J.E., DELONG, D.C. & MERTZ, E.T. (1959): Methionine and cystine requirements of chinook salmon. *Fed. Proc.* **18**, 2076 (Abstract).
- HALVER, J.E. & SHANKS, W.E. (1960): Nutrition of salmonid fishes. VIII. Indispensable amino acids for sockeye salmon. *J. Nutr.* **72**, 340-346.
- HARA, T.J. (1992): Mechanisms of olfaction. In: HARA, T.J. (ed.). *Fish chemoreception*. Chapman & Hall, London, pp. 150-170.
- HARDING, D.E., ALLEN, O.W. & WILSON, R.P. (1977): Sulfur amino acid requirement of channel catfish: L-methionine and L-cysteine. *J. Nutr.* **107**, 2031-2035.
- HASCHEMEYER, A.E. (1983): A comparative study of protein synthesis in notothenids and icefish at Palmer station, Antarctica. *Comp. Biochem. Physiol.* **76B**, 541-543.
- HASCHEMEYER, A.E. & SIMTH, M.A.K. (1979): Protein synthesis in liver, muscle and gill of mullet (*Mugil cephalus* L.) *in vivo*. *Biol. Bull.* **156**: 93- 102.
- HAWKINS, A.J.S. (1991): Protein turnover: a functional appraisal. *Functional Ecology* **5**, 222-233.

- HIDALGO, F., KENTOURI, M. & DIVANACH, P. (1988): Sur l'utilisation du self-feeder comme outil d'épreuve nutritionnelle du loup, *Dicentrarchus labrax*. Résultats préliminaires avec la méthionine. *Aquaculture* **68**, 177-190.
- HOULIHAN, D.F., CARTER, C.G. & MCCARTHY, I.D. (1995): Protein synthesis in fish. In: HOCHACHKA, P. & MOMMSEN, P. (eds.). *Biochemistry and molecular biology of fishes*, vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 191-220.
- HOULIHAN, D.F., COSTELLO, M.J., SECOMBES, C.J., STAGG, R. & BRECHIN, J. (1994): Effects of sewage sludge exposure on growth, feeding and protein synthesis of dab (*Limanda limanda* (L.)). *Marine Environ. Res.* **37**, 331-353.
- HOULIHAN, D.F., HALL, S.J. & GRAY, C. (1989): Effects of ration on protein turnover in cod. *Aquaculture* **79**, 103-110.
- HOULIHAN, D.F., HALL, S.J., GRAY, C. & NOBLE, B.S. (1988): Growth rates and protein turnover in Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **55**, 951-964.
- HOULIHAN, D.F., MCMILLAN, D.N. & LAURENT, P. (1986): Growth rates, protein synthesis, and protein degradation rates in rainbow trout: effects of body size. *Physiol. Zool.* **59**, 482-493.
- HOULIHAN, D.F., PANNEVIS, M. & HEBA, H. (1993): Protein synthesis in juvenile tilapia *Oreochromis mossambicus*. *J. World Aquacult. Soc.* **24**, 145-151.
- JACKSON, A.J. & CAPPER, B.S. (1982): Investigations into the requirements of the tilapia *Sarotherodon mossambicus* for dietary methionine, lysine and arginine in semi-synthetic diets. *Aquaculture* **29**, 289-297.

- JAUNCEY, K. (1998): *Tilapia feeds and feeding*. University of Stirling. Pisces Press, Stirling, Scotland, 241 pp.
- JONES, K.A. (1992): Food search behaviour in fish and the use of chemical lures in commercial and sports fishing. In: HARA, T.J. (ed.). *Fish chemoreception*. Chapman & Hall, London, pp. 288-320.
- JÜRSS, K. & BASTROP, R. (1995): Amino acid metabolism in fish. In: HOCHACHKA, P. & MOMMSEN, P. (eds.). *Biochemistry and molecular biology of fishes*, vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 159-189.
- KANWAL, J.S. & FINGER, T.E. (1992): Central representation and projections of gustatory systems. In: HARA, T.J. (ed.). *Fish chemoreception*. Chapman & Hall, London, pp. 79-102.
- KAUSHIK, S.J. (1998): Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles. *Aquat. Liv. Resources* **11**, 355-358.
- KAUSHIK, S.J., FAUCONNEAU, B., TERRIER, L. & GRASS, J. (1988): Arginine requirement and status assessed by different biochemical indices in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture* **70**, 75-95.
- KEEMBIYEHETTY, C.N. & GATLIN III, D.M. (1992): Dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass (*Marone chrysops* X *M. saxatilis*). *Aquaculture* **104**, 271-277.
- KETOLA, H.G. (1982): Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets. *Comp. Biochem. Physiol.* **73B**, 17-24.
- KETOLA, H.G. (1983): Requirement for dietary lysine and arginine by fry of rainbow trout. *J. Anim. Sci.* **56**, 101-107.

- KIM, K-I. (1993): Requirement for phenylalanine and replacement value of tyrosine for phenylalanine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **113**, 243-250.
- KIM, K-I., KAYES, T.B. & AMUNDSON, C.H. (1992a): Requirements for lysine and arginine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **106**, 333-344.
- KIM, K-I., KAYES, T.B. & AMUNDSON, C.H. (1992b): Requirements for sulphur amino acids and utilization of D-methionine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **101**, 95-103.
- KNAPP, E. & WIESER, W. (1981): Effects of temperature and food on the free amino acids in tissue of roach (*Rutilus rutilus* L.) and rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* **68A**, 187-198.
- LANGAR, H. & GUILLAUME, J. (1994): Effect of feeding pattern and dietary protein source on protein synthesis in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Comp. Biochem. Physiol.* **108A**, 461-466.
- LANGAR, H., GUILLAUME, J., METAILLER, R. & FAUCONNEAU, B. (1993): Augmentation of protein synthesis and degradation by poor dietary amino acid balance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Nutr.* **123**, 1754-1761.
- LEMIEUX, H., BLIER, P. & DUTIL, J.D. (1999): Do digestive enzymes set the physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Fish Physiol. Biochem.* **20**, 293-303.
- LIEBERT, F. (1978): Untersuchungen zur Verwertung von Stickstoff und limitierender Aminosäure sowie zu Methoden für die Bestimmung der limitierenden Aminosäure beim Broilerküken. Diss. (Promotion A), Karl-Marx-Universität Leipzig.
- LIEBERT, F. (1986): Untersuchungen zur Verwertung von Futterprotein und limitierender Aminosäure als Grundlage für Aussagen über Aminosäurenwirksamkeit und -bedarf beim wachenden Schwein. Diss. (Promotion B), Karl-Marx-Universität Leipzig.

- LIEBERT, F. (1998): Evaluation of amino acid availability in feed proteins and mixed feed for monogastrics – possibilities, limitations and outlook. 2. Conference-show of Mixed-feed Manufacturers of the Mediterranean, Reus, Spanien, 6 pp.
- LIEBERT, F. & GEBHARDT, G. (1980): Beziehungen zwischen Lysinkonzentration und Kenndaten der Eiweiß- und Aminosäurenverwertung beim Broilerküken. *Arch. Tierernähr.* **30**, 469-478.
- LIEBERT, F. & GEBHARDT, G. (1986): Ergebnisse zur Wirksamkeit und zum Bedarf an ausgewählten Aminosäuren beim wachsenden weiblichen Schwein. 1. Mitteilung – Lysin. *Arch. Anim. Nutr.* **36**, 1077-1086.
- LIEBERT, F. & GEBHARDT, G. (1987): Ergebnisse zur Wirksamkeit und zum Bedarf an ausgewählten Aminosäuren beim wachsenden weiblichen Schwein. 2. Mitteilung – Methionin und Zystin. *Arch. Anim. Nutr.* **37**, 159-167.
- LIEBERT, F. & GEBHARDT, G. (1988a): Ergebnisse zur Wirksamkeit und zum Bedarf an ausgewählten Aminosäuren beim wachsenden weiblichen Schwein. 5. Mitteilung – Kombination von Proteinträgern zur Ableitung der Lysinwirksamkeit mit Hilfe des Differenzverfahrens. *Arch. Anim. Nutr.* **38**, 27-36.
- LIEBERT, F. & GEBHARDT, G. (1988b): Ergebnisse zur Wirksamkeit und zum Bedarf an ausgewählten Aminosäuren beim wachsenden weiblichen Schwein. 6. Mitteilung – Zusammenfassende Diskussion und Wertung sowie Anwendungsempfehlungen zur vorgestellten Methode. *Arch. Anim. Nutr.* **38**, 453-462.
- LIEBERT, F., LE KHAC, H. & GEBHARDT, G. (1987): Ergebnisse zur Wirksamkeit und zum Bedarf an ausgewählten Aminosäuren beim wachsenden weiblichen Schwein. 4. Mitteilung: Kombinationen von Proteinträgern mit Lysin-, Methionin/Zystin- bzw. Threoninlimitanz. *Arch. Anim. Nutr.* **37**, 559-568.
- LIED, E., LUND, B. & VAN DER DECKEN, A. (1982): Protein synthesis *in vitro* by epaxial muscle polyribosomes from cod, *Gadus morhua*. *Comp. Biochem. Physiol.* **72B**, 187-193.

- LIED, E. & ROSENLUND, G. (1984): The influence of the ratio of protein energy to total energy in the feed on the activity of protein synthesis *in vitro*, the level of ribosomal RNA and the RNA-DNA ratio in white trunk muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.* **77A**, 489-494.
- LIED, E., ROSENLUND, G., LUND, B. & VON DER DECKEN, A. (1983): Effect of starvation and refeeding on *in vitro* protein synthesis in white trunk-muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.* **76B**, 777-781.
- LOVELL, T. (1998): *Nutrition and feeding of fish*. 2nd edition. Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London, pp. 267.
- LYNDON, A.R., DAVIDSON, I. & HOULIHAN, D.F. (1993): Changes in tissue and plasma free amino acid concentrations after feeding in Atlantic cod. *Fish Physiol. Biochem.* **10**, 365-375.
- LYNDON, A.R. & HOULIHAN, D.F. (1998): Gill protein turnover: costs of adaptation. *Comp. Biochem. Physiol.* **119A**, 27-34.
- LYNDON, A.R., HOULIHAN, D.F. & HALL, S.J. (1992): The effect of short-term fasting and a single meal on protein synthesis and oxygen consumption in cod, *Gadus morhua*. *J. Comp. Physiol.* **162B**, 209-215.
- MAGOUZ, F.I. (1990): Studies on optimal protein- and energy supply for Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in intensive culture. Diss. sc. agr., Göttingen.
- MAMBRINI, M. & KAUSHIK, S.J. (1995): Indispensable amino acids requirements of fish: correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue protein. *J. Appl. Ichthyol.* **11**, 240-247.
- MARUI, T. & CAPRIO, J. (1992): Teleost gustation. In: HARA T.J. (ed.). Fish chemoreception. Chapman & Hall, London, pp. 171-198.

- MATHERS, E.M., HOULIHAN, D.F., MCCARTHY, I.D. & BURREN, L.J. (1993): Rates of growth and protein synthesis correlated nucleic acid content in fry of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects of age and temperature. *J. Fish. Biol.* **43**, 245-263.
- MAZID, M.A., TANAKA, Y., KATAYAMA, T., SIMPSON, K.L. & CHICHESTER, C.O. (1978): Metabolism of amino acids in aquatic animals. III. Indispensable amino acids for *Tilapia zillii*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **44**, 739-742.
- MCCARTHY, I.D., CARTER, C.G. & HOULIHAN, D.F. (1992): The effect of feeding hierarchy on individual variability in daily feeding of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Biol.* **41**, 257-263.
- MCCARTHY, I.D., GAIR, D.J. & HOULIHAN, D.F. (1999): Feeding rank and dominance in *Tilapia rendalli* under defensible and indefensible patterns of food distribution. *J. Fish Biol.* **55**, 854-867.
- MCMILLAN, D.N. & HOULIHAN, D.F. (1989): Short-term responses of protein synthesis to re-feeding in rainbow trout. *Aquaculture* **79**, 37-46.
- MCMILLAN, D.N. & HOULIHAN, D.F. (1992): Protein synthesis in trout liver is stimulated by both feeding and fasting. *Fish Physiol. Biochem.* **10**, 23-34.
- MENTE, E., DEGUARA, S., SANTOS, M.B. & HOULIHAN, D.F. (2003): White muscle free amino acid concentrations following feeding a maize gluten dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* **225**, 133-147.
- MEYER-BURGDORFF, K.H. & ROSENOW, H. (1995a): Protein turnover and energy metabolism in growing carp. 1. Method of determining N-turnover using a ¹⁵N-labelled casein. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* **73**, 113-122.
- MEYER-BURGDORFF, K.H. & ROSENOW, H. (1995b): Protein turnover and energy metabolism in growing carp. 2. Influence of feeding level and protein energy ratio. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* **73**, 123-133.

- MEYER-BURGDORFF, K.H. & ROSENOW, H. (1995c): Protein turnover and energy metabolism in growing carp. 3. Energy cost of protein deposition. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* **73**, 134-139.
- MING, F.W. (1985): Ammonia excretion rate as an index for comparing efficiency of dietary protein utilization among rainbow trout (*Salmo gairdneri*) of different strains. *Aquaculture* **46**, 27-35.
- MILLWARD, D.J. (1989): The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. *Aquaculture* **79**, 1-28.
- MILLWARD, D.J. & RIVERS, J. (1988): The nutritional role of indispensable amino acids and the metabolic basis for their requirements. *Eur. J. Clin. Nutr.* **42**, 367-393.
- MOHAMED, K.A. (2002): Study to determine maximum growth capacity and amino acid requirements of Tilapia genotypes. Doctoral dissertation, Georg-August-University, Göttingen, Germany, 106 pp.
- MOON, H.Y. & GATLIN III, D.M. (1991): Total sulphur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture* **95**, 97-106.
- MORGAN, I.J., D'CRUZ, L.M., DOCKRAY, J.J., LINTON, T.K. & WOOD, C.M. (1999): The effects of elevated summer temperature and sublethal pollutants (ammonia, low pH) on protein turnover in the gill and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on limited food ration. *Comp. Biochem. Physiol.* **123A**, 43-53.
- MOUTOU, K.A., MCCARTHY, I.D. & HOULIHAN, D.F. (1998): The effect of ration level and social rank on the development of fin damage in juvenile rainbow trout. *J. Fish Biol.* **52**, 756-770.
- MURAI, T., AKIYAMA, T., OGATA, H., HIRASAWA, Y. & NOSE, T. (1982): Effect of coating amino acids with casein supplemented to gelatin diet on plasma free amino acids of carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **48**, 703-710.

- NAUMANN, K. & BASSLER, R. (1976-1997): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch, Bd. III, Verlag Neumann, Neudamm.
- NEGATU, Z. & MEIER, A.H. (1993): Daily variation of protein synthesis in several tissues of the gulf killifish, *Fundulus grandis* Baird and Girard. *Comp. Biochem. Physiol.* **106A**, 251-255.
- NG, W.K. & HUNG, S.S.O. (1994): Amino acid composition of whole body, egg, and selected tissues of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture* **126**, 329-339.
- NGAMSNAE, P., DE SILVA, S.S. & GUNASEKERA, R.M. (1999): Arginine and phenylalanine requirement of juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus* and validation of the use of body amino acid composition for estimating individual amino acid requirements. *Aquaculture Nutrition* **5**, 173-180.
- NOSE, T., ARAI, S., LEE, D. & HASHIMOTO, Y. (1974): A note on amino acids essential for growth of young carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **40**, 903-908.
- NRC (1993): Nutrient requirements of fish. National Research Council. National Academy Press, Washington, D.C., USA, 114 pp.
- ODUM, O. & EJIKE, C. (1991): Aspects of amino acid utilization in the cichlid *Oreochromis niloticus* (L.). *Acta Hydrobiol.* **33** (3-4), 345-352.
- OGATA, H. (1986): Correlations of essential amino acids patterns between the dietary protein and the blood, hepatopancreas, or skeletal muscle in carp. *Nippon Suisan Gakkaishi* **52**, 307-312.
- OGATA, H., ARAI, S. & NOSE, T. (1983): Growth responses of cherry salmon, *Oncorhynchus masou*, and amago salmon, *O. rhodurus*, fry fed purified casein diets supplemented with amino acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **49**, 1381-1385.

- OGINO, C. (1980): Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **46**, 71-75.
- OGUNJI, J.O. (2001): The nutritional physiology of Tilapia *Oreochromis niloticus* with special emphasis on the requirements of amino acid. Diss. Humboldt-Univ. Berlin, Logos-Verlag, Berlin, pp. 90.
- OGUNJI, J.O. & WIRTH, M. (2000): Effect of dietary protein content on growth, food conversion and body composition of *Oreochromis niloticus* fingerlings, fed fish meal diets. *J. Aqua. Trop.* **15** (4), 381-389.
- OMAR, E.A. (1984): Effect of type of feed, level and frequency of feeding on growth performance and feed utilization by carp. Diss. sc. agr., Göttingen.
- OWEN, S.F., MCCARTHY, I.D., WATT, P.W., LADERO, V., SANCHEZ, J.A., HOULIHAN, D.F. & RENNIE, M.J. (1999): *In vivo* rates of protein synthesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts determined using a stable isotope flooding dose technique. *Fish Physiol. Biochem.* **20**, 87-94.
- PERAGÓN, J., BARROSO, J.B., GARCÍA-SALGUERO, L., DE LA HIGUERA, M. & LUPIÁÑEZ, J.A. (1994): Dietary protein effects on growth and fractional protein synthesis and degradation rates in liver and white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **124**, 35-46.
- PERAGÓN, J., BARROSO, J.B., GARCÍA-SALGUERO, L., DE LA HIGUERA, M. & LUPIÁÑEZ, J.A. (1999): Carbohydrates affect protein-turnover rates, growth, and nucleic acid content in the white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **179**, 425-437.
- PLAKAS, S.M., KATAYAMA, T., TANAKA, Y. & DESHIMARU, O. (1980): Changes in the levels of circulating plasma free amino acids of carp (*Cyprinus carpio*) after feeding a protein and an amino acid diet of similar composition. *Aquaculture* **21**, 307-322.

- PORTZ, L. & CYRINO, J.E.P. (2003): Comparison of the amino acid contents of roe, whole body and muscle tissue and their A/E ratios for largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1892). *Aquacult. Res.* **34**, 585-592.
- RIMBACH, M.G. (2002): Untersuchungen zum leistungsabhängigen Threoninbedarf männlicher Broiler auf der Grundlage von N-Bilanzmessungen und Wachstumstests. Diss. sc. agr., Göttingen, 181 pp.
- RIMBACH, M.G. & LIEBERT, F. (2000): Ergebnisse zum alterabhängigen Threoninbedarf aktueller Broilergentypen. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **9**, 106.
- ROBBINS, K.R., NORTON, H.W. & BAKER, D.H. (1979): Estimation of nutrient requirements from growth data. *J. Nutr.* **109**, 1710-1714.
- ROBINSON, E.H., WILSON, R.P. & POE, W.E. (1980a): Total aromatic amino acid requirement, phenylalanine requirement and tyrosine replacement value for fingerling channel catfish. *J. Nutr.* **110**, 1805-1812.
- ROBINSON, E.H., WILSON, R.P. & POE, W.E. (1980b): Re-evaluation of the lysine requirement and lysine utilization by fingerling channel catfish. *J. Nutr.* **110**, 2313-2316.
- RODEHUTSCORD, M. & PACK, M. (1999): Estimates of essential amino acid requirements from dose-response studies with rainbow trout and broiler chicken: effect of mathematical model. *Arch. Anim. Nutr.* **52**, 223-244.
- ROLLIN, X., HIDALGO, Y., VALDEZ, M., TELLER, E. & VANBELLE, M. (1994): Quantitative methionine requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) juveniles. *Aquaculture* **124**, 61-66.
- ROSENLUND, G., LUND, B., LIED, E. & VON DER DECKEN, A. (1983): Properties of white trunk muscle from saithe, *Pollachius virens*, rainbow trout, *Salmo gairdneri*, and herring, *Clupea harengus*: protein synthesis *in vitro*, eletrophoretic study of proteins. *Comp. Biochem. Physiol.* **74B**, 389-397.

- ROSENLUND, G., LUND, B., SANDNES, K., BRAEKKAN, O.R. & VON DER DECKEN, A. (1984): Muscle protein synthesis *in vitro* of saithe (*Pollachius virens*) correlated to growth and daily energy intake. *Comp. Biochem. Physiol.* **77B**, 7-13.
- RUCHIMAT, T., MASUMOTO, T., HOSOKAWA, H. & SHIMENO, S. (1997a): Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture* **150**, 113-122.
- RUCHIMAT, T., MASUMOTO, T., HOSOKAWA, H., ITOH, Y. & SHIMENO, S. (1997b): Quantitative lysine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). *Aquaculture* **158**, 331-339.
- RUMSEY, G.L. & KETOLA, H.G. (1975): Amino acid supplementation of casein in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry and of soybean meal for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings. *J. Fish. Res. Board Can.* **32**, 422-426.
- RUNGRUANGSAK-TORRISSEN, K., CARTER, C.G., SUNDBY, A., BERG, A. & HOULIHAN, D.F. (1999): Maintenance ration, protein synthesis capacity, plasma insulin and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with genetically different trypsin isozymes. *Fish Physiol. Biochem.* **21**, 223-233.
- SACHS, L. (1968): *Statistische Auswertungsmethoden*. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York.
- SANTIAGO, C.B. & LOVELL, R.T. (1988): Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *J. Nutr.* **118**, 1540-1546.
- SCHLISIO, W. & NICOLAI, B. (1978): Kinetic investigations in the behaviour of free amino acids in the plasma and of two aminotransferases in the liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) after feeding on a synthetic composition containing pure amino acids. *Comp. Biochem. Physiol.* **59B**, 373-379.

- SCHUHMACHER, A., SCHON, J., GOLDBERG, M. & GROPP, J.M. (1995): Plasma amino acid levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Appl. Ichthyol.* **11**, 309-316.
- SCHWARZ, F.J. & KIRCHGESSNER, M. (1988): Amino acid composition of carp (*Cyprinus carpio* L.) with varying protein and energy supplies. *Aquaculture* **73**, 307-317.
- SCHWARZ, F.J., KIRCHGESSNER, M. & DEURINGER, U. (1998): Studies on the methionine requirement of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* **161**, 121-129.
- SEGOVIA, M. & REIGH, R.C. (2001): Uptake of crystalline methionine by Nile tilapia *Oreochromis niloticus* is affected by coating with tripalmitin-polyvinyl-acetate or cellulose-acetate-phthalate. *Proceedings of the World Aquaculture Society 2001*, Louisiana State University, Baton Rouge, LA., USA.
- SHANKS, W.E., GAHIMER, G.D. & HALVER, J.E. (1962): The indispensable amino acids for rainbow trout. *Prog. Fish. Cult.* **24**, 68-73.
- SHEARER, K.D. (2000): Experimental design, statistical analysis and modelling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. *Aquaculture Nutrition* **6**, 91-102.
- SHIAU, S.Y. & PENG, C.Y. (1993): Protein-sparing effect by carbohydrates in diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture* **117**, 327-334.
- SIDDIQUI, A.Q., HOWLADER, M.S. & ADAM, A.A. (1988): Effects of dietary protein levels on growth, feed conversion and protein utilization in fry and young Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* **70**, 63-73.
- SIERRA, M.A. (1995): La encapsulación como estrategia para establecer las necesidades de metionina y la suplementación de la proteína de soja. Consecuencias sobre el recambio proteico tisular y el crecimiento de la dorada (*Sparus aurata*). Ph.D. thesis, University of Granada, Spain.

- SMITH, M.A.K. (1981): Estimation of growth potential by measurement of tissue protein synthetic rates in feeding and fasting rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Richardson. *J. Fish Biol.* **19**, 213-220.
- SMITH, R.W., PALMER, R.M. & HOULIHAN, D.F. (2000): RNA turnover and protein synthesis in fish cells. *J. Comp. Physiol. B* **170**, 135-144.
- SUNDE, J., TARANGER, G.L. & RUNGRUANGSAK-TORRISSEN, K. (2001): Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmon salar* L.). *Fish Physiol. Biochem.* **25**, 335-345.
- SVEIER, H., RAAE, A.J. & LIED, E. (2000): Growth and protein turnover in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.); the effect of dietary protein level and protein particle size. *Aquaculture* **185**, 101-120.
- TAKEUCHI, T., SATOH, S. & WATANABE, T. (1983): Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **49**, 1127-1134.
- THEBAULT, H., ALLIOT, E. & PASTOREAUD, A. (1985): Quantitative methionine requirement of juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* **50**, 75-87.
- THONG, H.T. (2003): Variability of lysine and threonine efficiency in feed proteins and implications on amino acid requirements of growing pigs of modern genotype. Diss. sc. agr., Göttingen, 183 pp.
- THONG, H.T. & LIEBERT, F. (2004a): Amino acid requirement of growing pigs depending on amino acid efficiency and level of protein deposition. 1st Communication: lysine. *Arch. Anim. Nutr.* **58**, 69-87.
- THONG, H.T. & LIEBERT, F. (2004b): Amino acid requirement of growing pigs depending on amino acid efficiency and level of protein deposition. 2nd Communication: threonine. *Arch. Anim. Nutr.* **58**, 157-168.

- TIBALDI, E. & LANARI, D. (1991): Optimal dietary lysine levels for growth and protein utilization of fingerling sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fed semipurified diets. *Aquaculture* **95**, 297-304.
- TIDWELL, J.H., WEBSTER, C.D., COYLE, S.D., DANIELS, W.H. & D`ABRAMO, L.R. (1998): *Aquacult. Res.* **29**, 37-45.
- TOMAS, F.M., PYM, R.A. & JOHNSON, R.J. (1991): Muscle protein turnover in chickens selected for increased growth rates, food consumption or efficiency of food utilization: effects of genotype and relationship to plasma IGF-I and growth hormone. *Br. J. Poultry Sci.* **32**, 363-376.
- TORRISSEN, K.R., LIED, E. & ESPE, M. (1994): Differences in digestion and absorption of dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar*) with genetically different trypsin isozymes. *J. Fish Biol.* **45**, 1087-1104.
- TORRISSEN, K.R. & SHEARER, K.D. (1992): Protein digestion, growth and food conversion in Atlantic salmon and Arctic charr with different trypsin-like isozyme patterns. *J. Fish. Biol.* **41**, 409-415.
- TWIBELL, R.G., WILSON, K.A. & BROWN, P.B. (2000): Dietary sulfur amino acid requirement of juvenile yellow perch fed the maximum cystine replacement value for methionine. *J. Nutr.* **130**, 612-616.
- VAN DER BOON, J., VAN DEN THILLART, G. & ADDINK, A.D.F. (1991): The effects of cortisol administration on intermediary metabolism in teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol.* **100A**, 47-53.
- VIOLA, S., MOKADY, S. & ARIELI, Y. (1983): Effects of soybean processing methods on the growth of carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture* **32**, 27-38.
- WALTON, M.J. (1985): Aspects of amino acid metabolism in teleost fish. In: COWEY, C.B., MACKIE, A.M. & BELL, J.G, (eds.). *Nutrition and feeding in fish*. Academic press, London, pp. 47-67.

- WALTON, M.J., COLOSO, R.M., COWEY, C.B., ADRON, J.W. & KNOX, D. (1984a): The effects of dietary tryptophan levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.* **51**, 279-287.
- WALTON, M.J. & COWEY, C.B. (1982): Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish. *Comp. Biochem. Physiol.* **73B**, 59-79.
- WALTON, M.J., COWEY, C.B. & ADRON, J.W. (1984b): The effects of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.* **52**, 115-122.
- WALTON, M.J. & WILSON, R.P. (1986): Postprandial changes in plasma and liver free amino acids of rainbow trout fed complete diets containing casein. *Aquaculture* **51**, 105-115.
- WANG, K.W., TAKEUCHI, T. & WATANABE, T. (1985a): Effect of dietary protein levels on growth of *Tilapia nilotica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **51**, 133-140.
- WANG, K.W., TAKEUCHI, T. & WATANABE, T. (1985b): Optimum protein and digestible energy levels in diets for *Tilapia nilotica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **51** (1), 141-146.
- WATERLOW, J.C., GARLICK, P.J. & MILLWARD, D.J. (1978): *Protein-Turnover in mammalian tissues and in the whole body*. Elsevier, Amsterdam.
- WESSELING, B. (2003): Zur Wirksamkeit von Futteramino säuren beim Schwein. Diss. sc. agr., Göttingen, 159 pp.
- WILSON, R.P. (1985): Amino acid and protein requirements of fish. In: COWEY, C.B. MACKIE, A.M. & BELL, J.G. (eds.). *Nutrition and feeding in fish*. Academic Press, London, pp. 1-16.

- WILSON, R.P. (1989): Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E. (ed.). *Fish Nutrition*. 2nd edition. Academic Press, London, pp. 111-151.
- WILSON, R.P. (1994): Amino acid requirement of finfish. In: D'MELLO, J.P.F. (ed.). *Amino acids in farm animal nutrition*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 377-399.
- WILSON, R.P. (2002): Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E. & HARDY, R.W. (eds.). *Fish Nutrition*. 3rd edition. Elsevier Science, USA, pp. 143-179.
- WILSON, R.P., ALLEN, O.W., ROBINSON, E.H. & POE, W.E. (1978): Tryptophan and threonine requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.* **108**, 1595-1599.
- WILSON, R.P., GATLIN III, D.M. & POE, W.E. (1985): Postprandial changes in serum amino acids of channel catfish fed diets containing different levels of protein and energy. *Aquaculture* **49**, 101-110.
- WILSON, R.P., HARDING, D.E. & GARLING JR., D.L. (1977): Effect of dietary pH on amino acid utilization and the lysine requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.* **107**, 166-170.
- WILSON, R.P. & POE, W.E. (1985): Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Comp. Biochem. Physiol.* **80B**, 385-389.
- WILSON, R.P., POE, W.E. & ROBINSON, E.H. (1980): Leucine, isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish. *J. Nutr.* **110**, 627-633.
- WINBERG, S., CARTER, C.G., MCCARTHY, I.D., HE, Z.-Y., NILSSON, G.E. & HOULIHAN, D.F. (1993): Feeding rank and brain serotonergic activity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.* **179**, 197-211.

- WINBERG, S., NILSSON, G.E. & OLSÉN, K.H. (1992): Changes in brain serotonergic activity during hierarchic behaviour in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) are socially induced. *J. Comp. Physiol.* **170A**, 93-99.
- YAMADA, S., TANAKA, Y. & KATAYAMA, T. (1981): Feeding experiments with carp fry fed an amino acid diet by increasing the number of feedings per day. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **47**, 1247.
- YAMADA, S., TANAKA, Y. & KATAYAMA, T. (1982): Plasma amino acid changes in *Tilapia nilotica* fed a casein and a corresponding free amino acid diet. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **48**, 1783-1787.
- YAMAMOTO, T., UNUMA, T. & AKIYAMA, T. (2000): The influence of dietary protein and fat levels on tissue free amino acid levels of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **182**, 353-372.
- ZARATE, D.D. & LOVELL, R.T. (1999): Effects of feeding frequency and rate of stomach evacuation on utilization of dietary free and protein-bound lysine for growth by channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture Nutrition* **5**, 17-22.
- ZEISKE, E., THEISEN, B. & BREUCKER, H. (1992): Structure, development, and evolutionary aspects of the peripheral olfactory system. In: HARA, T.J. (ed.). *Fish chemoreception*. Chapman & Hall, London, pp. 13-39.

9 Tabellenanhang

Tab. A1: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verabreichung Lysin-supplementierter Futtermischungen

Diät	Startgewicht (g)	Endgewicht (g)	SGR (%)	FA (% mittlerer LM)	Futteraufwand
B-Lys-S	12,9	23,6	1,1	1,3	1,20
FM-Lys-S	12,9	104,0	3,7	2,8	0,99
S-Lys-S	12,8	89,5	3,5	2,7	1,02
SPC-Lys-S	12,9	78,8	3,2	2,5	0,96
SF-Lys-S	12,8	17,0	0,5	0,6	1,23
R-Lys-S	12,9	35,0	1,8	1,7	1,04
Bo-Lys-S	12,8	22,5	1,0	1,0	1,04
SF _{Hitze} -Lys-S	13,4	81,0	3,2	2,7	1,04
FM-Lys-S (V2)	13,4	89,9	3,4	2,7	1,02
FM-Lys-S (V2 A2)	13,4	83,0	3,3	2,7	1,04
FM-Lys-S (V3)	12,6	117,9	4,0	2,4	0,83

Tab. A2: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Lysin-supplementierten Diäten

Diät	PER (g/g)	PPW (%)	PNU (%)
B-Lys-S	2,49	25,86	49,52
FM-Lys-S	2,96	42,51	53,14
S-Lys-S	2,87	42,81	53,52
SPC-Lys-S	3,07	41,16	53,11
SF-Lys-S	2,38	24,08	71,82
R-Lys-S	2,90	34,70	52,29
Bo-Lys-S	2,86	33,02	62,40
SF _{Hitze} -Lys-S	2,82	40,03	51,07
FM-Lys-S (V2)	2,89	42,44	53,39
FM-Lys-S (V2 A2)	2,84	42,26	53,29
FM-Lys-S (V3)	3,54	51,91	64,22

Tab. A3: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-supplementierten Mischungen

Diät	N-Aufnahme (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	N-Ansatz b-Wert	Proteinqualität PNU (%) ¹
B-Lys-S	180	47	2980 69,0
FM-Lys-S	590	251	2969 68,9
S-Lys-S	560	240	2914 68,4
SPC-Lys-S	484	199	2651 66,0
SF-Lys-S	84	20	5384 79,6
R-Lys-S	265	92	2666 66,1
Bo-Lys-S	144	47	3759 74,2
SF _{Hitze} -Lys-S	529	212	2606 65,5
FM-Lys-S (V2)	550	233	2851 67,9
FM-Lys-S (V2 A2)	533	225	2801 67,4
FM-Lys-S (V3)	528	274	3919 74,9

¹standardisiert auf eine Stickstoff-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d

Tab. A4: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verabreichung Lysin-supplementierter erbsenhaltiger Futtermischungen

Diät	Startgewicht (g)	Endgewicht (g)	SGR (%)	FA (% mittlerer LM)	Futteraufwand
BE-Lys-S	11,0	42,4	2,4	2,1	1,02
EF-Lys-S	10,9	46,7	2,6	2,3	1,02

Tab. A5: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung Lysin-supplementierter erbsenhaltiger Diäten

Diät	PER (g/g)	PPW (%)	PNU (%)
BE-Lys-S	2,93	43,53	57,50
EF-Lys-S	2,90	45,28	58,37

Tab. A6: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-supplementierten erbsenhaltigen Mischungen

Diät	N-Aufnahme (mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)	N-Ansatz b-Wert	Proteinqualität PNU (%) ¹	
BE-Lys-S	346	151	2834	67,7
EF-Lys-S	379	172	2903	68,3

¹standardisiert auf eine Stickstoff-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d

Tab. A7: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verabreichung Methionin-supplementierter Futtermischungen

Diät	Startgewicht (g)	Endgewicht (g)	SGR (%)	FA (% mittlerer LM)	Futteraufwand
Soja-Met-S	13,4	84,6	3,3	2,7	1,02
SPC-Met-S	13,4	77,1	3,1	2,5	1,01
SF _{Hitze} -Met-S	13,4	51,8	2,4	2,1	1,00
FM-Met-S	13,4	88,7	3,4	2,7	1,03
R-Met-S	13,4	41,1	2,0	2,0	1,10

Tab. A8: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Methionin-supplementierten Diäten

Diät	PER (g/g)	PPW (%)	PNU (%)
Soja-Met-S	2,92	45,44	56,67
SPC-Met-S	2,98	44,92	56,79
SF _{Hitze} -Met-S	3,02	48,17	62,52
FM-Met-S	2,93	43,96	55,07
R-Met-S	2,77	42,59	57,86

Tab. A9: Berechnung der Modellparameter für die Methionin-supplementierten Mischungen

Diät	N-Aufnahme	N-Ansatz	Proteinqualität	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)		b-Wert	PNU (%) ¹
Soja-Met-S	526	239	3088	69,8
SPC-Met-S	485	218	2946	68,7
SF _{Hitze} -Met-S	360	173	3086	69,8
FM-Met-S	540	237	2976	68,9
R-Met-S	319	136	2835	67,7

¹standardisiert auf eine Stickstoff-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d

Tab. A10: Lebendmasseentwicklung, Futtermittelaufnahme und Futtermittelverwertung nach Verabreichung Threonin-supplementierter Futtermischungen

Diät	Startgewicht	Endgewicht	SGR (%)	FA	Futtermittelaufwand
	(g)	(g)		(% mittlerer LM)	
B-Thr-S	12,5	84,5	3,4	2,5	0,93
FM-Thr-S	12,6	140,0	4,3	3,1	1,03
S-Thr-S	12,6	108,4	3,8	2,8	1,00
SPC-Thr-S	12,6	122,8	4,1	2,8	0,97
SF _{Hitze} -Thr-S	12,6	124,8	4,1	2,8	0,97
R-Thr-S	12,5	73,0	3,1	2,5	1,00

Tab. A11: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung der Threonin-supplementierten Diäten

Diät	PER (g/g)	PPW (%)	PNU (%)
B-Thr-S	3,16	43,78	55,70
FM-Thr-S	2,96	44,25	54,17
S-Thr-S	2,98	43,55	54,09
SPC-Thr-S	3,07	45,41	55,95
SF _{Hitze} -Thr-S	3,03	44,45	54,83
R-Thr-S	2,97	41,90	53,64

Tab. A12: Berechnung der Modellparameter für die Threonin-supplementierten Mischungen

Diät	N-Aufnahme	N-Ansatz	Proteinqualität	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)		b-Wert	PNU (%) ¹
B-Thr-S	495	217	2866	68,0
FM-Thr-S	691	306	3999	75,3
S-Thr-S	601	262	3143	70,3
SPC-Thr-S	624	283	3565	73,1
SF _{Hitze} -Thr-S	637	283	3488	72,6
R-Thr-S	482	202	2703	66,5

¹standardisiert auf eine Stickstoff-Aufnahme von 600 mg N/LM_{kg}^{0,67}/d

Tab. A13: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen zu Versuchsbeginn (Nullgruppe), nach Ablauf von 28 Tagen sowie am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Lysin-limitierten Futtermischungen

Diät		TS (%)		XP (% TS)		XL + XX (% TS)		XA (% TS)	
		28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage
B-Lys	MW	23,4	23,1	55,6	56,5	20,8	19,0	23,7	24,5
	SD	1,0	1,4	3,1	2,3	3,3	3,5	1,3	1,3
FM-Lys	MW	26,1	27,0	49,7	49,7	31,9	32,8	18,4	17,5
	SD	1,0	1,7	2,1	1,7	2,3	2,0	0,4	0,5
S-Lys	MW	24,4	23,8	54,1	55,5	24,1	22,8	21,8	21,7
	SD	0,4	1,3	1,6	2,6	1,0	3,8	1,0	1,8
SPC-Lys	MW	25,4	25,3	52,5	51,3	27,9	29,4	19,6	19,3
	SD	1,1	2,3	0,9	2,9	1,5	4,0	1,3	1,4
SF-Lys	MW	21,3	20,2	59,8	64,8	12,0	6,2	28,1	29,1
	SD	1,0	1,4	3,4	1,8	3,6	2,0	1,2	2,0
R-Lys	MW	22,4	21,7	60,8	61,3	13,2	13,2	26,0	25,5
	SD	1,5	0,7	1,8	1,4	2,5	2,6	0,8	1,7
Bo-Lys	MW	21,3	21,2	62,0	63,0	11,9	10,4	26,1	26,6
	SD	1,4	1,4	5,1	1,6	6,0	1,6	1,3	0,7
SF _{Hitze} -Lys	MW	25,7	26,6	51,9	50,7	30,6	31,0	17,6	18,3
	SD	0,9	1,4	1,3	1,3	1,9	2,1	0,8	0,9
FM-Lys (V2)	MW	26,7	27,6	49,3	49,4	34,2	32,6	16,5	17,9
	SD	0,4	1,4	1,0	2,9	1,6	4,1	0,7	1,3
FM-Lys (V2 A2)	MW	28,3	30,3	47,8	46,3	36,9	38,8	15,2	14,9
	SD	0,7	1,3	0,8	1,3	1,0	1,8	0,3	0,5
FM-Lys (V3)	MW	26,9	28,3	49,6	48,0	32,1	34,9	18,3	17,1
	SD	0,5	0,6	0,5	1,0	0,7	1,6	0,4	0,9
Nullgruppe:									
Versuch 1			24,5		55,8		25,7		18,6
Versuch 2			23,1		58,2		22,4		19,4
Versuch 3			24,3		57,9		20,0		22,1

Tab. A14: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Lysin-supplementierten Futtermischungen (Angaben in % TS; Angaben zur Nullgruppe siehe Tab. A13)

Diät	TS	XP	XL + XX	XA
B-Lys-S	21,4	56,9	20,2	22,9
FM-Lys-S	29,1	49,1	36,5	14,3
S-Lys-S	30,6	48,3	38,4	13,3
SPC-Lys-S	27,0	49,9	35,2	14,9
SF-Lys-S	19,8	64,4	7,7	27,9
R-Lys-S	22,9	55,0	25,1	19,9
Bo-Lys-S	21,4	59,7	18,0	22,3
SF _{Hitze} -Lys-S	27,9	50,5	33,0	16,5
FM-Lys-S (V2)	29,4	49,4	35,8	14,8
FM-Lys-S (V2 A2)	30,5	48,1	37,8	14,2
FM-Lys-S (V3)	30,0	48,6	36,8	14,6

Tab. A15: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen zu Versuchsbeginn (Nullgruppe), nach Ablauf von 28 Tagen sowie am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Lysin-limitierten erbsenhaltigen Futtermischungen

Diät		TS (%)		XP (%TS)		XL + XX (%TS)		XA (% TS)	
		28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage
BE-Lys	MW	26,2	25,6	52,4	51,2	26,6	28,0	21,0	20,8
	SD	0,5	0,3	1,7	2,2	2,6	2,3	0,9	0,1
EA-Lys	MW	24,1	25,7	56,7	53,7	20,9	26,6	22,4	19,7
	SD	0,7	1,5	0,8	3,2	1,7	4,9	0,9	1,8
EA1-Lys	MW	26,0	27,8	52,5	50,0	27,9	32,5	19,6	17,5
	SD	0,6	0,8	0,8	1,1	1,1	1,5	0,6	0,4
EA2-Lys	MW	27,1	29,2	51,5	48,4	29,6	34,9	18,9	16,7
	SD	0,5	0,7	1,4	1,2	1,9	2,2	0,9	1,0
EB-Lys	MW	25,2	25,2	56,2	56,4	22,3	22,4	21,5	21,2
	SD	0,8	0,8	1,5	2,2	2,7	3,6	1,2	1,5
EC-Lys	MW	25,3	25,8	55,4	54,7	23,3	25,2	21,3	20,1
	SD	1,1	0,4	1,4	1,0	2,3	1,3	0,9	0,7
ED-Lys	MW	25,4	25,3	55,8	55,0	22,6	24,9	21,6	20,1
	SD	0,8	0,1	2,2	1,7	3,3	2,1	1,2	0,6
EE-Lys	MW	25,6	25,8	55,7	54,9	23,4	24,6	20,9	20,5
	SD	0,1	0,7	0,7	3,1	1,7	4,9	1,2	1,9
EF-Lys	MW	23,9	25,2	59,1	55,9	17,7	23,3	23,2	20,8
	SD	0,9	1,6	1,8	2,6	2,5	3,7	0,8	1,1
Nullgruppe:									
		24,3		57,9		20,0		22,1	

Tab. A16: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Lysin-supplementierten erbsenhaltigen Futtermischungen (Angaben in % TS; Angaben zur Nullgruppe siehe Tab. A15)

	TS	XP	XL + XX	XA
BE-Lys-S	28,1	52,0	30,0	18,0
EF-Lys-S	27,6	55,3	27,1	17,6

Tab. A17: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen zu Versuchsbeginn (Nullgruppe), nach Ablauf von 28 Tagen sowie am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Methionin/Cystin-limitierten Futtermischungen

Diät		TS (%)		XP (% TS)		XL + XX (% TS)		XA (% TS)	
		28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage
Soja-Met	MW	24,6	25,9	56,5	54,8	24,2	26,3	19,4	18,9
	SD	1,5	0,7	2,4	1,6	5,2	2,7	2,8	1,2
SPC-Met	MW	25,5	26,7	53,7	52,0	28,0	29,4	18,3	18,7
	SD	1,0	0,3	1,5	0,2	2,4	0,7	1,0	0,6
SF _{Hitze} -Met	MW	23,4	24,4	58,9	57,3	19,5	21,6	21,6	21,0
	SD	1,0	1,3	2,1	3,0	4,2	4,8	2,1	1,9
FM-Met ¹	MW	25,6	27,3	55,6	55,2	28,6	28,4	15,9	16,4
	SD	0,8	0,3	1,5	0,4	2,4	0,4	0,9	0,4
R-Met ¹	MW	22,9	23,3	61,9	62,4	17,0	16,6	21,0	21,0
	SD	1,7	1,2	2,1	2,1	4,1	3,4	2,1	1,5
Nullgruppe:		23,1		58,2		22,4		19,4	

¹kein Nachweis einer Methionin/Cystin-Limitierung

Tab. A18: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Methionin-supplementierten Futtermischungen (Angaben in % TS; Angaben zur Nullgruppe siehe Tab. A17)

Diät	TS	XP	XL + XX	XA
Soja-Met-S	26,0	58,6	24,8	16,6
SPC-Met-S	27,1	54,5	30,2	15,3
SF _{Hitze} -Met-S	25,4	60,2	22,0	17,8
FM-Met-S	25,9	57,2	25,5	17,3
R-Met-S	22,9	64,3	15,5	20,2

Tab. A19: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen zu Versuchsbeginn (Nullgruppe), nach Ablauf von 28 Tagen sowie am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Threonin-limitierten Futtermischungen

Diät		TS (%)		XP (% TS)		XL + XX (% TS)		XA (% TS)	
		28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage	28 Tage	56 Tage
B-Thr	MW	25,7	27,3	52,0	48,8	28,0	33,7	20,0	17,5
	SD	1,1	0,5	1,5	1,1	2,7	2,1	1,4	1,1
FM-Thr	MW	29,1	31,4	49,4	46,9	36,3	39,5	14,3	13,6
	SD	0,8	0,7	1,4	0,7	1,9	0,8	0,6	0,2
S-Thr	MW	26,8	28,4	52,4	50,6	30,5	33,7	17,1	15,7
	SD	1,4	1,1	2,0	0,6	4,4	0,8	2,4	0,8
SPC-Thr	MW	27,6	30,7	50,5	48,0	34,2	38,4	15,3	13,7
	SD	0,5	1,1	0,6	0,6	0,9	0,9	0,6	0,6
SF _{Hitze} -Thr	MW	25,6	28,0	53,8	51,1	27,1	33,0	19,1	15,9
	SD	1,1	2,7	3,0	3,9	5,6	6,0	2,7	2,1
R-Thr	MW	23,8	26,0	56,8	51,9	21,0	29,7	22,2	18,3
	SD	0,7	1,5	1,9	1,6	3,9	3,4	2,0	1,9
Nullgruppe:		24,3		57,9		20,0		22,1	

Tab. A20: Ganzkörperzusammensetzung der Gruppen am Versuchsende (56 Tage) nach Verabreichung der Threonin-supplementierten Futtermischungen (Angaben in % TS; Angaben zur Nullgruppe siehe Tab. A19)

Diät	TS	XP	XL + XX	XA
B-Thr-S	27,5	50,5	34,4	15,2
FM-Thr-S	32,2	46,2	40,6	13,2
S-Thr-S	28,5	51,1	33,4	15,5
SPC-Thr-S	30,1	48,9	37,5	13,5
SF _{Hitze} -Thr-S	30,5	47,9	38,4	13,7
R-Thr-S	29,1	48,5	36,1	15,3

Tab. A21: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verfütterung Lysin-limitierter Futtermischungen nach 28 Tagen

Diät	Startgewicht (g)	Endgewicht (g)		SGR (%)		FA (% mittlerer LM)		Futteraufwand	
		MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
B-Lys	12,9	15,6	0,5	0,7	0,1	1,0	0,1	1,40	0,15
FM-Lys	12,9	30,0	1,7	3,0	0,2	2,8	0,1	0,99	0,04
S-Lys	12,9	20,7	1,2	1,7	0,2	1,8	0,1	1,11	0,08
SPC-Lys	12,8	25,7	1,4	2,5	0,2	2,5	0,0	1,04	0,07
SF-Lys	12,9	13,1	0,6	0,1	0,2	0,3	0,1	2,03	0,33
R-Lys	12,9	14,8	0,6	0,5	0,2	0,7	0,1	1,55	0,30
Bo-Lys	12,9	14,0	0,9	0,3	0,2	0,6	0,2	1,85	0,39
SF _{Hitze} -Lys	13,4	31,1	1,1	3,0	0,1	2,6	0,2	0,93	0,03
FM-Lys (V2)	13,4	37,5	1,3	3,7	0,1	3,2	0,1	0,95	0,02
FM-Lys (V2 A2)	13,4	37,3	2,4	3,7	0,2	3,4	0,1	1,02	0,06
FM-Lys (V3)	12,6	33,1	0,6	3,5	0,1	3,3	0,1	1,02	0,03

Tab. A22: Parameter der Proteinverwertung nach Verfütterung Lysin-limitierter Diäten nach 28 Tagen

Diät	PER (g/g)		PPW (%)		PNU (%)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
B-Lys	2,15	0,22	25,68	5,72	52,17	8,31
FM-Lys	3,00	0,13	37,71	2,83	48,22	2,60
S-Lys	2,67	0,18	33,29	3,49	49,47	2,40
SPC-Lys	2,87	0,20	37,33	0,97	49,41	0,83
SF-Lys	0,08	1,88	-35,12	40,02	78,56	23,08
R-Lys	1,99	0,38	25,72	8,87	66,92	8,03
Bo-Lys	1,30	0,76	8,48	11,28	61,83	8,51
SF _{Hitze} -Lys	3,23	0,10	42,85	2,78	54,26	3,31
FM-Lys (V2)	3,14	0,08	40,68	1,53	49,99	1,86
FM-Lys (V2 A2)	2,94	0,17	39,92	1,09	48,65	1,16
FM-Lys (V3)	2,95	0,09	38,18	0,84	47,38	0,99

Tab. A23: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-limitierten Mischungen nach 28 Tagen

Diät	N-Aufnahme		N-Ansatz		Proteinqualität		c _{Lys} (g/16 g N)	bc ⁻¹ _{Lys}	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)				b-Wert			MW	SD
	MW	SD	MW	SD	MW	SD			
B-Lys	127	11	27	15	3149	145	3,13	1005	46
FM-Lys	428	19	162	19	1944	97	4,54	429	21
S-Lys	258	20	86	16	2199	17	4,31	510	4
SPC-Lys	360	9	134	6	2019	27	4,27	473	6
SF-Lys	38	16	-10	10	9008	3605	4,22	2133	854
R-Lys	97	20	26	12	4138	598	4,05	1022	148
Bo-Lys	80	27	9	10	4778	1448	4,31	1108	336
SF _{Hitze} -Lys	401	28	171	9	2179	136	4,29	508	32
FM-Lys (V2)	513	26	208	8	2030	76	4,55	446	17
FM-Lys (V2 A2)	545	16	217	10	1994	60	4,55	438	13
FM-Lys (V3)	500	21	191	9	1914	40	4,61	415	9

Tab. A24: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verfütterung Lysin-limitierter erbsenhaltiger Futtermischungen nach 28 Tagen

Diät	Startgewicht		Endgewicht (g)				SGR (%)		FA (% mittlerer LM)		Futteraufwand	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
BE-Lys	11,0	18,5	0,7	1,9	0,1	2,2	0,0	1,24	0,10			
EA-Lys	11,0	18,3	1,2	1,8	0,3	2,1	0,1	1,21	0,21			
EA1-Lys	11,0	22,6	1,0	2,6	0,2	2,6	0,1	1,05	0,03			
EA2-Lys	10,9	24,9	1,2	2,9	0,2	3,1	0,1	1,10	0,07			
EB-Lys	11,0	18,4	2,0	1,8	0,4	2,1	0,2	1,19	0,15			
EC-Lys	11,0	18,9	1,3	1,9	0,2	2,2	0,1	1,16	0,15			
ED-Lys	10,9	18,8	0,3	1,9	0,0	2,2	0,0	1,19	0,01			
EE-Lys	11,0	18,8	1,3	1,9	0,2	2,2	0,1	1,17	0,09			
EF-Lys	11,0	17,4	0,8	1,6	0,2	2,1	0,1	1,34	0,14			

Tab. A25: Parameter der Proteinverwertung nach Verabreichung Lysin-limitierter erbsenhaltiger Diäten nach 28 Tagen

Diät	PER (g/g)		PPW (%)		PNU (%)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
BE-Lys	2,39	0,20	31,73	3,33	44,92	3,57
EA-Lys	2,56	0,44	33,55	5,42	47,86	5,94
EA1-Lys	2,89	0,08	38,48	1,74	50,22	1,78
EA2-Lys	2,78	0,17	38,62	2,74	48,64	2,91
EB-Lys	2,54	0,30	36,18	4,79	50,64	3,54
EC-Lys	2,61	0,32	36,22	3,40	50,03	3,72
ED-Lys	2,53	0,02	36,13	0,89	49,58	0,88
EE-Lys	2,55	0,21	37,18	2,31	50,98	1,93
EF-Lys	2,24	0,23	31,81	2,69	45,74	3,17

Tab. A26: Berechnung der Modellparameter für die Lysin-limitierten erbsenhaltigen Mischungen nach 28 Tagen

Diät	N-Aufnahme		N-Ansatz		Proteinqualität		c_{Lys}	bc^{-1}_{Lys}	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)				b-Wert				
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	(g/16 g N)	MW	SD
BE-Lys	302	6	96	9	1975	120	3,76	526	32
EA-Lys	278	9	93	13	2118	199	4,62	459	43
EA1-Lys	355	17	136	9	2073	69	4,62	448	15
EA2-Lys	424	10	164	10	1981	116	4,66	426	25
EB-Lys	277	31	101	24	2219	42	4,48	495	9
EC-Lys	290	7	105	9	2160	124	4,56	473	27
ED-Lys	297	6	107	4	2133	33	4,58	466	7
EE-Lys	290	16	108	12	2194	50	4,59	478	11
EF-Lys	283	15	90	6	2044	121	4,70	435	26

Tab. A27: Kalkulierter Lysinbedarf in Abhängigkeit von Proteinansatz und Lysin-Wirksamkeit der eingesetzten Futtermischung

Proteinansatz (mg/d) ⁽¹⁾	211		177		143		109	
Ausschöpfung von PD _{max} T (%)	90		80		70		60	
bc ⁻¹ _{Lys}	415	510	415	510	415	510	415	510
Lysinbedarf:								
mg/LM _{kg} ^{0,67} /d	347	282	242	197	181	148	138	112
(mg/d) ⁽¹⁾	33	27	23	19	17	14	13	11
% im Futter ^{(1) (2)}	2,76	2,24	1,93	1,57	1,44	1,17	1,10	0,89
% im Futter ^{(1) (3)}	3,15	2,57	2,20	1,79	1,65	1,34	1,25	1,02

⁽¹⁾für eine Tilapie mit einer Lebendmasse von 30g

⁽²⁾bei einer Futteraufnahme von 4,0% der Lebendmasse pro Tag

⁽³⁾bei einer Futteraufnahme von 3,5% der Lebendmasse pro Tag

Tab. A28: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verfütterung Methionin/Cystin-limitierter Futtermischungen nach 28 Tagen

Diät	Startgewicht		Endgewicht (g)		SGR (%)		FA (% mittlerer LM)		Futteraufwand	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Soja-Met	13,4	28,5	2,8	2,7	0,3	2,6	0,3	1,04	0,01	
SPC-Met	13,4	31,4	2,2	3,0	0,2	3,0	0,1	1,06	0,07	
SF _{Hitze} -Met	13,4	23,4	2,4	2,0	0,4	1,9	0,3	1,01	0,05	
FM-Met	13,4	43,4	2,0	4,2	0,2	3,9	0,1	1,03	0,03	
R-Met	13,4	24,0	2,9	2,1	0,4	2,3	0,4	1,12	0,05	

Tab. A29: Parameter der Proteinverwertung nach Verfütterung Methionin/Cystin-limitierter Diäten nach 28 Tagen

Diät	PER (g/g)		PPW (%)		PNU (%)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Soja-Met	2,92	0,04	41,47	0,60	53,03	0,93
SPC-Met	2,84	0,19	39,30	2,10	49,20	2,34
SF _{Hitze} -Met	2,99	0,16	42,41	1,90	58,27	3,26
FM-Met	2,92	0,09	42,52	1,79	50,27	1,81
R-Met	2,71	0,11	40,31	3,43	54,07	2,44

Tab. A30: Berechnung der Modellparameter für die Methionin/Cystin-limitierten Mischungen nach 28 Tagen

Diät	N-Aufnahme		N-Ansatz		Proteinqualität		c_{M+C}	Met-Anteil (%)	bc^{-1}_{M+C}	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)		b-Wert		(g/16 g N)				MW	SD
	MW	SD	MW	SD	MW	SD				
Soja-Met	392	59	163	27	2148	47	3,51	54,6	613	13
SPC-Met	462	27	182	13	1982	95	3,77	57,8	526	25
SF _{Hitze} -Met	276	51	117	20	2443	182	3,69	57,9	662	49
FM-Met ¹	637	19	271	15	2221	139	3,66	63,7	----	----
R-Met ¹	321	66	131	37	2250	96	4,22	52,7	----	----

¹kein Nachweis einer Aminosäure-Limitation

Tab. A31: Kalkulierter Bedarf an schwefelhaltigen Aminosäuren in Abhängigkeit von Proteinansatz und Wirksamkeit der eingesetzten Futtermischung

Proteinansatz (mg/d) ⁽¹⁾	211		177		143		109	
Ausschöpfung von PD _{max} T (%)	90		80		70		60	
bc^{-1}_{M+C}	526	662	526	662	526	662	526	662
Bedarf an schwefelhaltigen AS:								
mg/LM _{kg} ^{0,67} /d	274	218	191	153	143	114	109	87
(mg/d) ⁽¹⁾	26	21	18	15	14	11	10	8
% im Futter ^{(1) (2)}	2,18	1,74	1,52	1,21	1,14	0,91	0,87	0,69
% im Futter ^{(1) (3)}	2,49	1,98	1,74	1,39	1,30	1,04	0,99	0,79

⁽¹⁾für eine Tilapie mit einer Lebendmasse von 30g

⁽²⁾bei einer Futteraufnahme von 4,0% der Lebendmasse pro Tag

⁽³⁾bei einer Futteraufnahme von 3,5% der Lebendmasse pro Tag

Tab. A32: Lebendmasseentwicklung, Futteraufnahme und Futterverwertung nach Verfütterung Threonin-limitierter Futtermischungen nach 28 Tagen

Diät	Startgewicht	Endgewicht (g)		SGR (%)		FA (% mittlerer LM)		Futteraufwand	
	(g)	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
B-Thr	12,5	27,3	1,4	2,8	0,2	2,4	0,2	0,92	0,03
FM-Thr	12,6	57,6	4,1	5,4	0,3	4,1	0,2	0,91	0,02
S-Thr	12,6	37,6	6,1	3,9	0,6	3,2	0,4	0,91	0,02
SPC-Thr	12,6	42,3	5,1	4,3	0,5	3,4	0,3	0,88	0,00
SF _{Hitze} -Thr	12,5	30,9	5,3	3,2	0,6	2,7	0,4	0,89	0,03
R-Thr	12,5	22,3	2,3	2,0	0,4	2,0	0,3	0,98	0,04

Tab. A33: Parameter der Proteinverwertung nach Verfütterung Threonin-limitierter Diäten nach 28 Tagen

Diät	PER (g/g)		PPW (%)		PNU (%)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
B-Thr	3,19	0,10	40,59	1,23	52,68	1,23
FM-Thr	3,34	0,09	48,30	0,59	55,61	0,81
S-Thr	3,27	0,07	45,78	1,06	55,21	1,38
SPC-Thr	3,45	0,02	47,93	0,60	56,94	1,47
SF _{Hitze} -Thr	3,35	0,09	45,46	2,37	56,90	3,29
R-Thr	3,00	0,13	38,27	2,18	53,72	2,22

Tab. A34: Berechnung der Modellparameter für die Threonin-limitierten Mischungen nach 28 Tagen

Diät	N-Aufnahme		N-Ansatz		Proteinqualität		c _{Thr}	bc ⁻¹ _{Thr}	
	(mg/LM _{kg} ^{0,67} /d)				b-Wert			(g/16 g N)	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW		SD
B-Thr	366	36	149	17	2139	55	2,74	782	20
FM-Thr	726	48	351	21	3175	334	3,22	989	104
S-Thr	512	88	235	44	2341	123	3,19	734	38
SPC-Thr	546	64	261	28	2482	34	3,19	778	11
SF _{Hitze} -Thr	403	79	183	34	2316	128	3,14	737	41
R-Thr	279	49	107	23	2300	188	3,10	743	61

Tab. A35: Kalkulierter Threoninbedarf in Abhängigkeit von Proteinansatz und Threonin-Wirksamkeit der eingesetzten Futtermischung

Proteinansatz (mg/d) ⁽¹⁾	211		177		143		109	
Ausschöpfung von PD _{max} T (%)	90		80		70		60	
bc ⁻¹ _{Thr}	734	989	734	989	734	989	734	989
Threoninbedarf:								
mg/LM _{kg} ^{0,67} /d	196	146	137	102	103	76	78	58
(mg/d) ⁽¹⁾	19	14	13	10	10	7	7	6
% im Futter ^{(1) (2)}	1,56	1,16	1,09	0,81	0,82	0,61	0,62	0,46
% im Futter ^{(1) (3)}	1,78	1,32	1,25	0,92	0,93	0,69	0,71	0,53

⁽¹⁾für eine Tilapie mit einer Lebendmasse von 30g

⁽²⁾bei einer Futteraufnahme von 4,0% der Lebendmasse pro Tag

⁽³⁾bei einer Futteraufnahme von 3,5% der Lebendmasse pro Tag

Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. habil. F. Liebert für die Überlassung des Themas, sein mir entgegengebrachtes Vertrauen und die Betreuung der vorliegenden Arbeit.

Frau Prof. Dr. G. Hörstgen-Schwark danke ich für ihr Interesse an meinen Untersuchungen, der Bereitstellung von geeignetem Tiermaterial und die Übernahme des Zweitgutachtens.

Allen ehemaligen Kollegen des Instituts für Tierphysiologie und Tierernährung der Universität Göttingen, die direkt oder indirekt am Zustandekommen der vorliegenden Arbeit teilhatten, sei an dieser Stelle gedankt. Tatkräftige Mithilfe bei der Versuchsvorbereitung und -durchführung sowie bei der Datenerfassung gewährten Frau Dr. H. Rosenow, Herr W. Kulp sowie Herr T. Kraft. Unterstützung bei den chemischen Analysen leisteten Frau Dr. A. Sünder, Frau M. Hübner, Frau H. Kittel, Frau M. Rippel, Frau O. Warnecke und Frau K. Sauerland. Frau H. Marbell stand bei organisatorischen Belangen stets hilfreich zur Seite.

Meinen Mistreitern um Doktorwürden Abdul, Heri, John, Khaled, Lee, Nassir, Samadi, Sultan und Nurhayati danke ich für die angenehme Zeit miteinander. Bernhard und Martin gilt mein besonderer Dank für ihre stetige Bereitwilligkeit, an ihrem Fachwissen in einer fröhlichen kameradschaftlichen Atmosphäre teilhaben zu können.

Leandro danke ich für die schöne gemeinsam verbrachte Zeit und für eine Vielzahl von fruchtbaren Diskussionen und Anregungen.

Darüber hinaus möchte ich Herrn Dr. A. Müller-Belecke für die Aufzucht und Bereitstellung von jungen Tilapien sowie für die gute Zusammenarbeit danken. Herrn S. Wessels danke ich für die gekonnte Anfertigung der Abbildung von Anlage 2.

Meinen Eltern Elke und Arnfried Benkendorff sowie Anna Luiza danke ich für ihre fortwährende persönliche Unterstützung.