

Technische Universität München

Lehrstuhl für Tierernährung

**Einfluss exogener Enzymzulagen bei Milchkühen auf die ruminale
Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel, pansenphysiologische Parameter
und die Gesamtverdaulichkeit**

Rudolf Eisenreich

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur
Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. J. Bauer

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. F.J. Schwarz

2. Univ.-Prof. Dr. H.H.D. Meyer

Die Dissertation wurde am 20.12.2007 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für
Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 26.02.2008 angenommen.

meiner Familie

Danksagung

Herrn Prof. Dr. F.J. Schwarz danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Anleitung, die mir stets gewährte Unterstützung und insbesondere für die freundliche und sehr gute Betreuung der Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Versuchsanlage für Tierernährung und der Versuchsstation Hirschau für ihre jederzeit gewährte Unterstützung bedanken.

Mein besonderer Dank gilt zudem Herrn Dr. Steinberg (Fa. DSM) und Herrn Bruyer (Fa. Beldem) für die Bereitstellung der verwendeten Enzymprodukte.

Freising-Weihestephan, im Dezember 2007

Rudi Eisenreich

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	MATERIAL UND METHODIK	2
2.1	Versuchsplanung und Versuchsaufbau.....	2
2.1.1	Versuchsreihe 1: Amylase 7b®, Celluclast®, Roxazyme®	3
2.1.2	Versuchsreihe 2: Roxazyme®	5
2.1.3	Versuchsreihe 3: Xylanase (<i>Bacillus subtilis</i>), Cellulase (<i>Trichoderma reesei</i>), Xylanase (<i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i>)	6
2.2	Enzymbeschreibung	7
2.3	Versuchdurchführung.....	8
2.3.1	Tiermaterial und Tierhaltung.....	8
2.3.2	Rationsgestaltung	8
2.3.3	T-, Rohrnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der verfütterten Rationen.....	9
2.3.4	Enzymsupplementation und Vorbehandlung der inkubierten Futtermittel.....	11
2.3.5	T-, Rohrnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der inkubierten Futtermittel.....	13
2.4	Methodik der in sacco-Abbaubarkeitsmessung	15
2.5	Ermittlung der Messparameter	16
2.5.1	Kalkulation der T- bzw. NDF-Verluste und der effektiven Abbauraten.....	16
2.5.2	Verdaulichkeitsmessung in den Versuchen V1-2 und V2-1	18
2.5.3	Ermittlung der Pansenparameter.....	19
2.5.4	Ermittlung der Bakterienpopulation in Versuch V2-1	22
2.6	Analytische Methoden	24
2.6.1	Trockensubstanz- und Rohrnährstoffanalytik sowie Bestimmung der TiO ₂ -Gehalte im Futter und im Kot	24
2.6.2	NDF- und Stärkeanalytik.....	24
2.6.3	Bestimmung des pH-Wertes im Pansensaft.....	26
2.6.4	Bestimmung des Ammoniakgehaltes im Pansensaft	26
2.6.5	Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft.....	26
2.7	Statistische Auswertung	27

3	ERGEBNISSE	28
3.1	Versuchsreihe 1	28
3.1.1	Versuch 1-1: Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen von Amylase 7b®, Celluclast® und Roxazyme® auf die Abbaubarkeit von Maissilage	28
3.1.1.1	T-Verlust <i>in sacco</i>	29
3.1.1.2	Parameter der potentiellen Abbaubarkeit.....	33
3.1.1.3	Effektive ruminale Abbaubarkeit.....	36
3.1.1.4	NDF-Verlust.....	39
3.1.2	Versuch 1-2: Einfluss von Amylase 7b®, Celluclast® und Roxazyme® auf die Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel, Verdaulichkeit der Gesamtration und pansenphysiologische Parameter	40
3.1.2.1	T-Verlust <i>in sacco</i>	41
3.1.2.2	Parameter der potentiellen Abbaubarkeit.....	46
3.1.2.3	Effektive ruminale Abbaubarkeit.....	50
3.1.2.4	NDF-Verlust.....	54
3.1.2.5	Verdaulichkeit der Gesamtration	56
3.1.2.6	Einfluss auf Pansenparameter pH-Wert, NH ₃ -N und FFS	56
3.2	Versuchsreihe 2 (Versuch V2-1): Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen von Roxazyme® auf die Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel, Verdaulichkeit der Gesamtration, Pansenparameter und ruminale Bakterienpopulation	61
3.2.1	T-Verlust <i>in sacco</i>	61
3.2.2	Parameter der potentiellen Abbaubarkeit	67
3.2.3	Effektive ruminale Abbaubarkeit.....	71
3.2.4	NDF-Verlust	74
3.2.5	Verdaulichkeit der Gesamtration	76
3.2.6	Einfluss auf Pansenparameter pH-Wert, NH ₃ -N und flüchtige Fettsäuren.....	76
3.2.7	Einfluss auf die Bakterienpopulation im Pansen der Versuchstiere	80
3.3	Versuchsreihe 3.....	85
3.3.1	Versuch V3-1: Einfluss von Xylanase (<i>Bacillus subtilis</i>), Cellulase (<i>Trichoderma reesei</i>) und Xylanase (<i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i>) auf die Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel.....	85
3.3.1.1	T-Verlust <i>in sacco</i>	86
3.3.1.2	Parameter der potentiellen Abbaubarkeit.....	90
3.3.1.3	Effektive ruminale Abbaubarkeit.....	93
3.3.1.4	NDF-Verlust.....	95

3.3.2	Versuch 3-2: Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen von Xylanase (<i>Bacillus subtilis</i>) und Cellulase (<i>Trichoderma reesei</i>) auf den T-Verlust <i>in sacco</i> verschiedener Futtermittel.....	97
3.3.2.1	T-Verlust <i>in sacco</i>	97
3.3.2.2	NDF-Verlust.....	101
4	DISKUSSION.....	103
4.1	Der Pansen unter besonderer Berücksichtigung enzymatischer Abbauprozesse	103
4.1.1	Charakterisierung des Pansenökosystems	103
4.1.2	Ruminale Abbauprozesse	106
4.2	Zum Einsatz von Enzymen in der Wiederkäuerernährung.....	109
4.2.1	Wirkungsweise exogener Enzyme	110
4.2.1.1	Enzymeffekte im Futter	111
4.2.1.2	Ruminale Enzymeffekte	113
4.2.1.3	Postruminale Enzymeffekte.....	121
4.2.2	Enzymkonzentrationen und Aktivitäten	122
4.2.3	Substrat und Zeitpunkt der Enzymzulage.....	127
4.3	Einfluss exogener Enzyme auf Abbau- und Leistungsparameter.....	130
4.3.1	Einfluss auf die ruminale Abbaubarkeit <i>in situ</i>	130
4.3.2	Einfluss auf die Verdaulichkeit.....	141
4.3.3	Einfluss auf pansensphysiologische Parameter	144
4.3.4	Einfluss auf Leistungsparameter	151
5	SCHLUSSFOLGERUNGEN.....	159
6	ZUSAMMENFASSUNG	161
7	SUMMARY	165
8	LITERATURVERZEICHNIS	168
9	TABELLENANHANG	9-1

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Übersicht der in dieser Arbeit durchgeführten Versuche mit Angabe der Durchgänge, der Enzyme, der Enzymkonzentrationen, der Anzahl der inkubierten Futtermittel und Tiere je Behandlungsvariante	3
Tab. 2: Behandlungen der Versuche V1-1 und V1-2 der Versuchreihe 1 unter Angabe der Bezeichnung und der verschiedenen Enzymkonzentrationen	4
Tab. 3: Überblick über Anzahl der Tiere (n) und Adaptions- bzw. Messperiode je Versuchsdurchgang bei Versuch V1-2	5
Tab. 4: Überblick über Anzahl der Tiere (n) und Adaptions- bzw. Messperiode je Versuchsdurchgang bei Versuch V2-1	6
Tab. 5: Behandlungen der Versuche V3-1 und V3-2 der Versuchreihe 3 unter Angabe der Bezeichnung und der verschiedenen Konzentrationen	7
Tab. 6: Beschreibung der Enzymprodukte mit Angabe von Mindestaktivität und Herstellungstamm (laut Hersteller bzw. Produktdatenblatt)	7
Tab. 7: Zusammensetzung der in Versuch V1-2 verfütterten TMR	9
Tab. 8: Zusammensetzung der in den Versuchsreihen 2 und 3 verfütterten TMR	9
Tab. 9: T-, Roh Nährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der in den Versuchsreihen 1 bis 3 verfütterten Komponenten (\pm SD).....	10
Tab. 10: Überblick über die verschiedenen Aufbereitungsschritte der in Versuch V1-2 <i>in sacco</i> untersuchten Futtermittel	12
Tab. 11: T-, Roh Nährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der in den Versuchsreihen 1 bis 3 inkubierten Grund- und Kraftfuttermittel und TMRs	14
Tab. 12: Mittlere Essig-, Propion- und Buttersäurekonzentrationen im Pansensaft der Versuchstiere der Versuche V1-1, V3-1 und V3-2.....	19
Tab. 13: Konzentrationseffekte von Amylase® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) auf den T-Verluste (%) der Maissilage aus V1-1 in Abhängigkeit der Inkubationszeit in Bezug zur Kontrolle (K) (\pm SD).....	30
Tab. 14: Gegenüberstellung des Effekts von Amylase 7b® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) in den einzelnen Konzentrationsstufen 1 bis 3 auf den T-Verlust (%) der Maissilage aus V1-1 in Abhängigkeit der Inkubationszeit (\pm SD).....	32
Tab. 15: Konzentrationseffekte von Amylase® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) auf die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 der Maissilage aus V1-1 in Bezug zur Kontrolle (K) (\pm SD)	34
Tab. 16: Gegenüberstellung des Effekts von Amylase 7b® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) in den einzelnen Konzentrationsstufen 1 bis 3 auf die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 der Maissilage aus V1-1 (\pm SD).....	35
Tab. 17: Konzentrationseffekte von Amylase® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) auf die effektive Abbaubarkeit der Maissilage aus V1-1 in Bezug zur Kontrolle (K) in Abhängigkeit der Passagerate (k) (\pm SD)	37

Tab. 18: Gegenüberstellung des Effekts von Amylase 7b® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) in den einzelnen Konzentrationsstufen 1 bis 3 auf die effektive Abbaubarkeit der Maissilage aus V1-1 in Abhängigkeit der Passagerate (k) (\pm SD).....	38
Tab. 19: Einfluss der Enzyme Celluclast® und Roxazyme® in der Konzentrationsstufe 3 auf den NDF-Verlust (%) der Maissilage aus Versuch V1-1 bei den Nullvarianten (0 h) und nach 8 h Inkubationsdauer in Bezug zur Kontrolle (\pm SD).....	39
Tab. 20: T-Verluste (%) von Gerste und Biertreber des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD).....	42
Tab. 21: T-Verluste (%) von Körnermais und Trockenschnitzel des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)	43
Tab. 22: T-Verluste (%) von Maissilage und Grassilage des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD).....	44
Tab. 23: T-Verluste (%) von Heu und TMR des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD).....	45
Tab. 24: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Gerste, Biertreber, Körnermais und Trockenschnitzel des Versuches V1-2 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD).....	47
Tab. 25: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Maissilage, Grassilage, Heu und TMR des Versuches V1-2 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD)	49
Tab. 26: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Gerste, Biertreber, Körnermais und Trockenschnitzel des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD).....	51
Tab. 27: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Maissilage, Grassilage, Heu und TMR des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD).....	53
Tab. 28: NDF-Verluste (%) der in V1-2 untersuchten Futtermittel nach 4 h (Gerste, Biertreber, Körnermais, Trockenschnitzel) bzw. 8 h (Maissilage, Grassilage, Heu, TMR) Inkubationszeit bei den Behandlungen K, C2 und R3 (\pm SD).....	55
Tab. 29: Verdaulichkeit von OM, XF, NDF und Stärke (%) der Gesamtration aus Versuch V1-2 der Behandlungen K, A2, C2 und R3 (\pm SD).....	56
Tab. 30: Mittlere pH-Werte im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen A2, C2 und R3 und der Kontrolle (K) (\pm SD).....	57
Tab. 31: Mittlere Gehalte an $\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/ 100 ml) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen A2, C2 und R3 und der Kontrolle (K) (\pm SD).....	57
Tab. 32: Mittlere Essig-, Propion- und Buttersäurekonzentrationen (mmol/ l) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen A2, C2 und R3 und der Kontrolle (K) (\pm SD)	59
Tab. 33: T-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)	63

Tab. 34: T-Verluste (%) von Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)	64
Tab. 35: T-Verluste (%) von Mais- und Grassilage des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD).....	65
Tab. 36: T-Verluste (%) von Heu und TMR des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD).....	66
Tab. 37: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD)	68
Tab. 38: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot des Versuches V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD).....	69
Tab. 39: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Mais- und Grassilage des Versuches V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD).....	70
Tab. 40: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Heu und TMR des Versuches V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD).....	70
Tab. 41: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD).....	72
Tab. 42: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD).....	72
Tab. 43: Effektive T-Abbaubarkeiten von Mais- und Grassilage des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD).....	73
Tab. 44: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Heu und TMR des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD).....	74
Tab. 45: NDF-Verluste (%) der in V2-1 untersuchten Futtermittel nach 4 h Inkubationszeit bei den Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SD).....	75
Tab. 46: Verdaulichkeit von OM, XF und NDF (%) der Gesamtration aus Versuch V2-1 der Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SD).....	76
Tab. 47: Mittlere pH-Werte im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen (R2 und R3) und der Kontrolle (K) (\pm SD).....	77
Tab. 48: Mittlere Gehalte an $\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/ 100 ml) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen (R2 und R3) und der Kontrolle (K) (\pm SD)	77
Tab. 49: Mittlere Essig-, Propion- und Buttersäurekonzentrationen (mmol/ l) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen (R2 und R3) und der Kontrolle (K) (\pm SD).....	79
Tab. 50: T-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)	87
Tab. 51: T-Verluste (%) von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)	89

Tab. 52: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD)	91
Tab. 53: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD)	92
Tab. 54: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD).....	93
Tab. 55: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD).....	94
Tab. 56: NDF-Verluste (%) der in V3-1 untersuchten Futtermittel nach 4 h Inkubationszeit bei den Behandlungen K, XB3, CT3 und XPH3 (\pm SD)	96
Tab. 57: T-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Xylanasezulage (\pm SD)	98
Tab. 58: T-Verluste (%) von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Cellulasezulage (\pm SD)	99
Tab. 59: NDF-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-2 nach 0 und 4 h Inkubationszeit in Abhängigkeit der Xylanasezulage (\pm SD)	101
Tab. 60: NDF-Verluste (%) von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-2 nach 0 und 4 h Inkubationszeit in Abhängigkeit der Cellulasezulage (\pm SD)	102
Tab. 61: Mittlere Enzymaktivitäten* zweier Enzympräparate in der Pansen- bzw. Darmdigesta 0 h und 1,5 bis 15 h (Mittelwert) nach der Enzyminfusion (nach HRISTOV et al., 1998).....	114
Tab. 62: Zellwandabbauende Enzymaktivitäten innerhalb kommerzieller Cellulase- und Xylanaseprodukte (nach RODE et al., 2001).....	126
Tab. 63: Überblick über Enzymeffekte auf T-Verlust, <i>in sacco</i> -Parameter und effektive ruminale T-Abbaubarkeit der untersuchten Krafftuttermittel <i>in situ</i> innerhalb der einzelnen Versuche.....	132
Tab. 64: Überblick über Enzymeffekte auf T-Verlust, <i>in sacco</i> -Parameter und effektive ruminale T-Abbaubarkeit der untersuchten Grundfuttermittel bzw. TMRs <i>in situ</i> innerhalb der einzelnen Versuche	133
Tab. 65: Verlust (%) an „Zellinhaltsstoffen“ der in den Versuchsreihen 1 und 2 untersuchten Futtermittel nach 4 bzw. 8 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Enzymzulage.....	139
Tab. 66: Verlust (%) an „Zellinhaltsstoffen“ der in Versuchsreihe 3 untersuchten Futtermittel nach 4 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Enzymzulage	140
Tab. 67: Futtermittelspezifische Konzentrationsempfehlungen (g/ kg T) der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Enzympräparate	141
Tab. 68: Gesamtverdaulichkeit von organischer Masse (OM), Rohfaser (XF), Stärke und NDF aus den Versuchen V1-2 und V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage	142
Tab. 69: Mittlere ¹ ruminale pH-Werte, NH ₃ -N-Gehalte und FFS-Konzentrationen der in den Versuchen V1-2 und V2-1 untersuchten Enzymbehandlungen und der Kontrolle	146
Tab. 70: Auswirkungen exogener Enzymzulagen auf Pansen-pH und NH ₃ -N-Gehalt	149
Tab. 71: Auswirkungen exogener Enzymzulagen auf die FFS-Gesamtkonzentration, die molaren Anteile von Acetat, Butyrat und Propionat und das C2:C3-Verhältnis	150

Tab. 72: Auswirkungen exogener Enzymzulagen auf Futteraufnahme, Milchleistung und Milchinhaltsstoffe 156

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Mittlerer Verlauf des pH-Wertes und des Gehaltes an NH₃-N im Pansensaft der Versuchstiere (n=6) zum Ende von Versuch V1-1 (± SD) 21

Abb. 2: Mittlerer Verlauf des pH-Wertes und des Gehaltes an NH₃-N im Pansensaft der Versuchstiere (n=6) zum Ende von Versuch V3-1 (± SD) 21

Abb. 3: Mittlerer Verlauf des pH-Wertes und des Gehaltes an NH₃-N im Pansensaft der Versuchstiere (n=6) zum Ende von Versuch V3-2 (± SD) 21

Abb. 4: Anteil von *A. lipolytica* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (± SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (± SE) 83

Abb. 5: Anteil *F. succinogenes* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (± SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (± SE) 83

Abb. 6: Anteil von *P. ruminicola* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (± SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (± SE) 83

Abb. 7 Anteil von *R. flavefaciens* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (± SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (± SE) 84

Abb. 8: Anteil von *S. ruminatum* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (± SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (± SE) 84

Abb. 9: Anteil von *T. bryantii* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (± SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (± SE) 84

Abb.10: Ruminale Stabilität von β-Glucosidase (A) und β-Xylosidase (B) von verschiedenen Enzympräparaten 0 h (=100%) bis 6 h nach der Fütterung in Abhängigkeit der proteolytischen Aktivität im Pansen der Versuchstiere (1=hohe ruminale proteolytische Aktivität 2=niedrige ruminale proteolytische Aktivität) (nach RODE et al., 2001)115

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

A	Amylase 7b®
a	Lösliche oder schnell abbaubare Fraktion
Abb.	Abbildung
b	Abbaubare Fraktion
BCS	Body condition score
C	Celluclast®
c	Abbaurrate von b
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
CT	Cellulase (<i>Trichoderma reesei</i>)
d	Potentiell abbaubare Fraktion
DIM	Days in milk
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FFS	Flüchtige Fettsäuren
g	Gramm
h	Stunde
i.T.	In der Trockenmasse
K	Kontrolle
k	Passagerate
kg	Kilogramm
l	Liter
mg	Milligramm
Min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MSE	Mittlerer Standardfehler
N	Stickstoff
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NDF	Neutrale Detergentienfaser
NH ₃	Ammoniak
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pH	PH-Wert
R	Roxazyme® G2 Liquid
SD	Standardabweichung
sec	Sekunde
T	Trockenmasse
Tab.	Tabelle
TiO ₂	Titandioxid
TMR	Total mixed ration
t ₀	Lag time
U	Units/ Umdrehungen
V	Versuch
VR	Versuchsreihe
vs.	Im Vergleich zu
XA	Rohasche
XB	Xylanase (<i>Bacillus subtilis</i>)
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein
XPH	Xylanase (<i>Pseudoalteromonas halpolanktis</i>)
%	Prozent
°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
<	kleiner
>	größer

1 Einleitung

Seit Beginn der intensiven Tierproduktion werden Anstrengungen unternommen, Futteradditive zur Verbesserung der Futterverwertung und somit zur Deckung des immer höheren Nährstoffbedarfs von Hochleistungstieren zu entwickeln. Das Verbot von effektiven Zusatzstoffen wie Antibiotika verstärkte die Suche nach adäquaten Ersatztechnologien.

Exogene bzw. über das Futter zugeführte Enzyme werden bis dato zur Beseitigung antinutritiver Faktoren in Futtermitteln und zur Erhöhung der Nährstoffverdaulichkeit bei Monogastriden eingesetzt. Der Einsatz beim Wiederkäuer hingegen gilt als noch nicht routinemäßig. Ursprünglich bestand die Annahme, dass exogene Enzyme auf Grund der hohen proteolytischen Aktivität im Pansen nicht überlebensfähig wären (CHESSON, 1994). Zudem sind die endogenen Enzymaktivitäten für den Faser- und Phytatabbau innerhalb des Pansenökosystems sehr hoch, so dass eine Erhöhung durch Zulage exogener Enzymprodukte als schwierig angesehen wird.

Die Idee eines Enzymeinsatzes bei Wiederkäuer ist nicht neu. Schon in den 1960ern wurden eine Vielzahl von Untersuchungen, welche sich mit der Erforschung des Potentials von enzymbehandelten Futterrationen für Wiederkäuer beschäftigten, durchgeführt. Verschiedene Studien zeigten wesentliche Verbesserungen in der Futterverdaulichkeit und von Tierleistungen in Folge eines Enzymeinsatzes (BURROUGHS et al., 1960; CLARK et al., 1961; ROVICS und ELY, 1962; VAN WALLEGHEM et al., 1964; RUST et al., 1965; PERRY et al., 1960), jedoch wurden in anderen Studien auch keine bis sogar negative Enzymeffekte festgestellt (THEURER et al., 1963; PERRY et al., 1966).

Anstrengungen zur Beschreibung der benutzten Enzyme und zur Bestimmung derer Wirkungsweise wurden dabei nicht unternommen. Zu dieser Zeit war die Herstellung exogener Enzyme zudem sehr teuer und an einen ökonomisch sinnvollen Einsatz nicht denkbar. Die zunehmende Kostenreduzierung im Fermentationsprozess zusammen mit dem Vorhandensein aktiverer und besser definierter Enzympräparate ermutigte eine Vielzahl von Forschern, die Rolle exogener Enzyme in der Rinderhaltung neu zu überprüfen (RODE et al., 2001).

Unter diesem Gesichtspunkt ist es Ziel der vorliegenden Arbeit, einen Beitrag zur näheren Charakterisierung der Wirkungsweise exogener Enzymzulagen zu leisten.

2 Material und Methodik

2.1 *Versuchsplanung und Versuchsaufbau*

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Einfluss verschiedener Enzyme auf die ruminale Abbaubarkeit handelsüblicher und wirtschaftseigener Futtermittel. Als Messmethodik wurde die *in sacco*-Technik mittels pansenfistulierter Milchkühe (n=6) gewählt. Die untersuchten Behandlungen differenzieren sich zum einen durch die Enzymart zum anderen durch die Enzymkonzentration. Die Auswahl der untersuchten Futtermittel erfolgte in erster Linie anhand ihres NDF- bzw. Stärkegehaltes.

Die Arbeit setzt sich aus drei Versuchreihen (VR1-VR3) zusammen. Versuchsreihe 1 beinhaltete zwei Einzelversuche (V1-1 und V1-2). Versuch V1-1 hatte zum Ziel, den Einfluss von drei Enzympräparaten (Amylase 7 b®, Celluclast® 1.5 L und Roxazyme® G2 Liquid) in Abhängigkeit ihrer Konzentrationsstufe (n=3) auf die ruminale Abbaubarkeit von Maissilage zu ermitteln. In V1-2 wurde der Effekt der Enzympräparate in einer definierten Konzentration in zwei Durchgängen auf die ruminale Abbaubarkeit von acht verschiedenen Futtermitteln untersucht. Versuchsreihe 2 setzte sich aus einem Versuch (V2-1) mit drei Durchgängen zusammen, in dem das Enzympräparat Roxazyme® G2 Liquid in zwei Konzentrationen an neun Futtermittel beprobt wurde. Weiterhin wurde im Rahmen dieser Arbeit der Einfluss von Roxazyme® auf die Bakterienpopulation im Pansen der Versuchstiere ermittelt. Als zusätzliche Messparameter dienten in den Versuchen V1-2 und V2-1 pansenphysiologische Parameter (pH, NH₃-N und die Konzentration an flüchtigen Fettsäuren (FFS)) und die Verdaulichkeit der Gesamtration. In Versuchsreihe 3 wurden in zwei Einzelversuchen (V3-1 und V3-2) der Effekt von den Enzymen Xylanase aus *Bacillus subtilis* (XB), Cellulase aus *Trichoderma reesei* (CT) und Xylanase aus *Pseudoalteromonas haloplanktis* (XPH) auf die ruminale Abbaubarkeit von sechs Futtermitteln (V3-1) und in V3-2 der Einfluss der Enzyme XB und CT in Abhängigkeit ihrer Konzentrationsstufe (n=3) auf je drei Futtermittel untersucht. Insgesamt wurden elf verschiedene Futtermittel beprobt. In allen Versuchen wurde als zusätzliche Komponente der NDF-Verlust nach definierten Inkubationszeiten ermittelt. Eine Übersicht der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tab. 1: Übersicht der in dieser Arbeit durchgeführten Versuche mit Angabe der Durchgänge, der Enzyme, der Enzymkonzentrationen, der Anzahl der inkubierten Futtermittel und Tiere je Behandlungsvariante

	Durchgänge	Enzyme	Konzentrationen (n)	Futtermittel (n)	Tiere pro Behandlung
<u>Versuchsreihe 1</u>					
Versuch V1-1	1	Amylase 7b®	3	1	6
		Celluclast®	3	1	6
		Roxazyme®	3	1	6
Versuch V1-2	2	Amylase 7b®	1	8	3
		Celluclast®	1	8	3
		Roxazyme®	1	8	3
<u>Versuchsreihe 2</u>					
Versuch V2-1	3	Roxazyme®	2	9	6
<u>Versuchsreihe 3</u>					
Versuch V3-1	1	Xylanase (<i>Bacillus subtilis</i>)	1	6	3
		Cellulase (<i>Trichoderma reesei</i>)	1	6	3
		Xylanase (<i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i>)	1	6	3
Versuch V3-2	1	Xylanase (<i>Bacillus subtilis</i>)	3	3	3
		Cellulase (<i>Trichoderma reesei</i>)	3	3	3

2.1.1 Versuchsreihe 1: Amylase 7b®, Celluclast®, Roxazyme®

Ziel von Versuch V1-1 war es, den Einfluss von drei Enzympräparaten (Amylase 7b®, Celluclast® und Roxazyme®) in Abhängigkeit ihrer Konzentration (n=3) auf die ruminale Abbaubarkeit von Maissilage zu ermitteln. In diesem Versuch wurden alle Tiere (n=6) der gleichen Behandlung unterzogen, so dass sechs Wiederholungen zu verzeichnen waren. Die Versuchsdauer erstreckte sich über einen Zeitraum von 25 Tagen (14 Tage Futteradaption, 11 Tage Messperiode). Am Tag 11 der Messperiode erfolgte die Pansensaftentnahme zur Bestimmung des pH-Wertes, des Gehaltes an NH₃-N und der Konzentrationen von Essig-, Propion- und Buttersäure. Versuch V1-2 hatte zum Ziel, den Effekt einer definierten Konzentration der Enzyme Amylase 7b®

(8,08 g/ kg T, A2), Cellulclast® 1.5 L (6,78 g/ kg T, C2) und Roxazyme® G2 Liquid (27,7 g/ kg T, R3) auf die ruminale Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel (n=8) zu bestimmen. Die Behandlungen der Versuchsreihe 1 sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tab. 2: Behandlungen der Versuche V1-1 und V1-2 der Versuchsreihe 1 unter Angabe der Bezeichnung und der verschiedenen Enzymkonzentrationen

Bezeichnung	Behandlung									
	Kontrolle	Amylase 7b®			Cellulclast®			Roxazyme®		
	K	A1	A2	A3	C1	C2	C3	R1	R2	R3
<i>Versuch V1-1</i>										
Konzentration (g/ kg T)	0	4,04	8,08	16,2	3,39	6,78	13,6	6,92	13,8	27,7
<i>Versuch V1-2</i>										
Konzentration (g/ kg T)	0	-	8,08	-	-	6,78	-	-	-	27,7

Da bei Versuch V1-2 als weitere Messkriterien der Einfluss der Enzyme auf die Verdaulichkeit der Gesamtration und die Pansenparameter pH-Wert, NH₃-N und den Gehalt an flüchtigen Fettsäuren ermittelt wurde, wurden die Enzyme sowohl auf die inkubierten Futtermittel als auch auf die verfütterte Ration (TMR) supplementiert. Der Versuch wurde mit sechs Kühen in Anlehnung eines unvollständigen zweifachen 3x3 Lateinischen Quadrates durchgeführt, was drei Tiere (n=3) pro Behandlung zur Folge hatte (Tab. 3). Die Futteradaption betrug je Versuchsdurchgang (n=2) 14 Tage, an welche eine elftägige Messperiode folgte.

Tab. 3: Überblick über Anzahl der Tiere (n) und Adaptions- bzw. Messperiode je Versuchsdurchgang bei Versuch V1-2

	Behandlung			
	K (0 g/ kg T)	A2 (8,08 g/ kg T)	C2 (6,78 g/ kg T)	R3 (27,7 g/ kg T)
Durchgang 1	n=1	n=2	n=2	n=1
Durchgang 2	n=2	n=1	n=1	n=2
<u>Futteradaption pro Durchgang</u>				
14 Tage				
<u>Messperiode pro Durchgang</u>				
	Tag 1-10 <i>in situ</i> -Versuch			
11 Tage	Tag 7-10 Verdaulichkeitsmessung/ Kotentnahme			
	Tag 11 Pansensaftentnahme			

2.1.2 Versuchsreihe 2: Roxazyme®

Ausgehend von den Ergebnissen aus Versuch V1-2 wurden in Versuchsreihe 2 in einem Versuch (V2-1) die zwei hohen Konzentrationsstufen R2 und R3 (13,8 bzw. 27,7 g/ kg T) des Enzympräparates Roxazyme® G2 Liquid im Vergleich zu einer Kontrollbehandlung untersucht. Als Messkriterien dienen die Parameter der *in sacco*-Methode von neun verschiedenen Futtermitteln, die Verdaulichkeit der Gesamtration und die Pansenparameter pH-Wert, NH₃-N und die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft. Zusätzlich wurde der Einfluss des Enzyms auf die ruminale Bakterienpopulation überprüft. Die Enzymsupplementation erfolgte wie in Versuch V1-2 sowohl auf das Inkubationsmaterial als auch auf die verfütterte Tagesration (TMR). Der Versuch gliederte sich in drei Einzeldurchgänge mit je 18 Tagen Futteradaption und einer dreizehntägigen Messperiode. Die gesamte Versuchsdauer betrug 95 Tage. Um den tierspezifischen Einfluss zu minimieren wurde als Versuchsdesign ein zweifaches 3x3 Lateinisches Quadrat gewählt. Somit wurde jedes Tier (n=6) jeder der drei Behandlungen ausgesetzt. Tabelle 4 zeigt den Versuchsaufbau mit Aufteilung in Adaptions- und Messperiode.

Tab. 4: Überblick über Anzahl der Tiere (n) und Adaptions- bzw. Messperiode je Versuchsdurchgang bei Versuch V2-1

	Behandlung		
	K (0 g/ kg T)	R2 (13,8 g/ kg T)	R3 (27,7 g/ kg T)
Durchgang 1	n=2	n=2	n=2
Durchgang 2	n=2	n=2	n=2
Durchgang 3	n=2	n=2	n=2

Futteradaption pro Durchgang

18 Tage

Messperiode pro Durchgang

	Tag 1-10 <i>in situ</i> -Versuch
13 Tage	Tag 7-10 Verdaulichkeitsmessung/ Kotentnahme
	Tag 11 Pansensaftentnahme
	Tag 12-13 Pansensaftentnahme für bakterielle Bestimmung

2.1.3 Versuchsreihe 3: Xylanase (*Bacillus subtilis*), Cellulase (*Trichoderma reesei*), Xylanase (*Pseudoalteromonas haloplanktis*)

In Versuch V3-1 wurden weitere drei NSP-spaltende Enzyme (Xylanase aus *Bacillus subtilis* (XB), Cellulase aus *Trichoderma reesei* (CT), Xylanase aus *Pseudoalteromonas haloplanktis* (XPH)) in einer definierten Konzentration (27,7 g/ kg T) auf ihre Wirksamkeit untersucht. Als Inkubationsmaterial wurden sechs Futtermittel verwendet. In Versuch V3-2 wurde die Wirkung der Enzyme XB und CT in Abhängigkeit ihrer Konzentrationsstufe (6,92, 13,8 und 27,7 g/ kg T) auf den T-Verlust von je drei Futtermittel nach den Inkubationszeiten 2, 4, 8 und 16 h und bei den Nullstunden ermittelt. Die Futtermittel wurden auf zweimal drei Tiere aufgeteilt, so dass drei Wiederholungen pro Behandlung zu verzeichnen waren. Die Versuchspläne glichen dem von Versuch V1-1 mit einer 14-tägigen Vorperiode (Futteradaption) und einer elf- (V3-1) bzw. fünftägigen (V3-2) Messperiode. Die Enzymzugabe erfolgte wie in Versuch V1-1 nur auf das inkubierte Probenmaterial. Ein Überblick der in Versuchsreihe 3 untersuchten Behandlungen mit Angabe der Kurzbezeichnung und Konzentrationen ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tab. 5: Behandlungen der Versuche V3-1 und V3-2 der Versuchreihe 3 unter Angabe der Bezeichnung und der verschiedenen Konzentrationen

	Behandlung							
	Kontrolle	Xylanase (<i>Bacillus subtilis</i>)			Cellulase (<i>Trichoderma reesei</i>)			Xylanase (<i>Pseudoalteromonas haloplanktis</i>)
Bezeichnung	K	XB1	XB2	XB3	CT1	CT2	CT3	XPH3
<u>Versuch V3-1</u>								
Konzentration (g/ kg T)	0	-	-	27,7	-	-	27,7	27,7
<u>Versuch V3-2</u>								
Konzentration (g/ kg T)	0	6,92	13,8	27,7	6,92	13,8	27,7	-

2.2 Enzymbeschreibung

Die Enzymprodukte aus Versuchsreihe 1 und 2 wurden von den Firmen Novozymes (Bagsvaerd, Dänemark) und DSM (Heerlen, Niederlande) bezogen. Die Enzyme aus Versuchsreihe 3 stammten von der Firma BELDEM (Groot Bijgaarden, Belgien). Die Hauptaktivitäten und der Herstellungsorganismus der einzelnen Präparate sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tab. 6: Beschreibung der Enzymprodukte mit Angabe von Mindestaktivität und Herstellungsstamm (laut Hersteller bzw. Produktdatenblatt)

Produktname	Enthaltene Enzyme	Aktivität	Herstellungsstamm	Firma
Amylase 7b®	α -amylase	120 KNU-S/ g	<i>Bacillus licheniformis</i>	Novozymes
Celluclast® 1.5 L	Cellulase	700 EGU/ g	<i>Trichoderma reesei</i>	Novozymes
Roxazyme® G2 Liquid	Endo-1,4- β -glucanase	8000 U/ ml	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	DSM
	Endo-1,3(4)- β -glucanase	18000 U/ ml		
	Endo-1,4- β -xylanase	26000 U/ ml		
-	Xylanase	100 IU/ g	<i>Bacillus subtilis</i>	Beldem
-	Cellulase	400 U C1/ g	<i>Trichoderma reesei</i>	Beldem
-	Xylanase	1000 DXU/ g	<i>Pseudolateromonas halopanktis</i>	Beldem

2.3 Versuchsdurchführung

2.3.1 Tiermaterial und Tierhaltung

Die *in situ*-Abbaubarkeitsversuche wurden an der Versuchsanlage des Bereichs Tierernährung (VAT) des Departments für Tierwissenschaften der TU München durchgeführt. Es standen sechs trockenstehende Kühe der Rasse "Deutsche Holstein" zur Verfügung. Alle Versuchstiere waren mit einer Fistel im dorsalen Pansensack versehen. Die Tiere standen in einem vollklimatisierten (20 °C) Stall in Anbindehaltung mit Einzeltierfütterung bei strohloser Aufstallung auf Gummimatten. Alle Tiere hatten per Selbsttränke zu jeder Zeit freien Zugang zum Tränkewasser.

2.3.2 Rationsgestaltung

Versuchsreihe 1

In Versuchsreihe 1 kamen zwei unterschiedliche Rationen zum Einsatz. In Versuch V1-1 setzte sich eine Tagesration aus 3,60 kg T Maissilage, 2,70 kg T Heu, 0,45 kg T Sojaextraktionsschrot und 100 g Mineralfutter zusammen. Die Fütterung der Versuchstiere erfolgte um 7:00 Uhr und um 16:00 Uhr. In Versuch V1-2 wurde eine TMR (total mixed ration) verfüttert (Tab. 7). In der Absicht eine praxisnahe Ration zu verfüttern wurde ein für trockenstehende Tiere relativ hoher Kraftfutteranteil (29,1 % i.T.) eingesetzt. Zudem wurde darauf geachtet, dass alle (außer Sojaextraktionsschrot) in der *in sacco*-Methode überprüften Futtermittel auch als Rationskomponente verwendet wurden. Die Futtermenge betrug 5,50 kg T pro Kuh und Tag und 0,50 kg Heu als Extragabe, welche um 9:00 Uhr verabreicht wurde. Eine ausreichende Mineralstoffversorgung wurde durch eine tägliche Mineralfuttergabe von 100 g pro Kuh gewährleistet.

Tab. 7: Zusammensetzung der in Versuch V1-2 verfütterten TMR

Futterkomponenten	(%) T
Maissilage	43,6
Grassilage	18,2
Heu	9,10
Krafftutter*	29,1

*Körnermais (62,5 %), Gerste (6,30 %), Sojaextraktionsschrot (31,2 %) (T Basis)

Versuchsreihen 2 und 3

In den Versuchsreihen 2 und 3 wurde eine TMR eingesetzt, deren Zusammensetzung in Tabelle 8 dargestellt ist. Die tägliche Futtermenge betrug 5,60 kg T TMR und 0,5 kg T Heu als Extragabe um 9:00 Uhr. Der Krafftutteranteil betrug 33,9 % in der Trockenmasse und entsprach somit dem Einsatz in einer Milchviehherde mittlerer Leistung. Die Mineralstoffgabe betrug wiederum 100 g pro Tier und Tag. Außer Rapsextraktionsschrot in Versuchsreihe 3 wurden alle Rationskomponenten auch *in sacco* untersucht. Der Einsatz der gleichen Diät ermöglichte eine Minimierung des Fütterungseinflusses auf die pansenphysiologischen Parameter und einen folglich besseren Vergleich der verschiedenen Enzympräparate.

Tab. 8: Zusammensetzung der in den Versuchsreihen 2 und 3 verfütterten TMR

Futterkomponenten	(% T)
Maissilage	39,3
Grassilage	17,9
Heu	8,90
Krafftutter*	33,9

*Gerste (52,6 %), Biertreber (31,6 %), Rapsextraktionsschrot (15,8 %) (T Basis)

2.3.3 T-, Rohrnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der verfütterten Rationen

In Tabelle 9 sind die T-, Rohrnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der in den Versuchsreihen 1 bis 3 verfütterten Rationskomponenten zusammengestellt. Die in Versuch V1-1 verfütterte Maissilage wies einen T-Gehalt von 45,1 % auf. Der Rohfasergehalt betrug 22,9 % i.T. und der Stärkegehalt 37,8 % i.T., was einer Silage mit einem mittleren bis hohen Kolbenanteil entspricht. Das verfütterte Heu und

Sojaextraktionsschrot wurden nicht analysiert. Die in den Versuchen V1-2, V2-1 und V3-1/2 eingesetzte TMR wurde zweimal pro Woche auf der Versuchsstation Hirschau gemischt. Für die Analyse wurde wochenweise eine Mischprobe aus den zwei Mischtagen hergestellt. Die TMRs wiesen mit einem über alle Versuche mittleren T-Gehalt von 47,4 % einen für Mischrationen üblichen Wert auf. Mit einem Rohprotein- und Rohfasergehalt von 14,3 bzw. 18,9 % i.T. wurden die Versorgungsempfehlungen für trockenstehende Kühe gut eingehalten. In Versuch V1-2 wurde auf Grund der Amylasebehandlung zusätzlich der Stärkegehalt der TMR mit 23,4 % i.T. analysiert. Das verfütterte Heu entsprach mit einem mittleren Rohproteingehalt von 13,7 % i.T. und einem NDF-Gehalt von 58,6 % i.T. im Durchschnitt einem Heu mittleren Reifegrades (NRC, 2001).

Tab. 9: T-, Rohnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der in den Versuchsreihen 1 bis 3 verfütterten Komponenten (\pm SD)

	T	XP	XF	XA	XL	NDF	Stärke
	(%)	(% in T)					
Maissilage V1-1	45,1	7,55	22,9	3,48	3,10	46,1	37,8
TMR V1-2	46,8 \pm 2,55	14,2 \pm 0,47	18,2 \pm 1,21	5,56 \pm 0,39	3,68 \pm 0,11	46,1 \pm 1,61	23,4 \pm 2,61
TMR V2-1	47,3 \pm 1,80	14,5 \pm 0,49	18,9 \pm 1,00	5,54 \pm 0,38	3,50 \pm 0,15	36,6 \pm 2,35	-
TMR V3-1	49,7 \pm 0,37	13,8 \pm 0,46	20,2 \pm 0,69	5,84 \pm 0,29	3,65 \pm 0,27	36,6 \pm 0,65	-
TMR V3-2	45,9 \pm 1,30	14,8 \pm 0,54	18,5 \pm 1,12	5,85 \pm 0,58	3,87 \pm 0,22	38,3 \pm 1,84	-
Mittel TMR	47,4	14,3	18,9	5,70	3,67	39,4	-
Heu V1-2	91,1	15,4	29,2	8,57	2,24	56,6	-
Heu V2-1	90,4	15,0	29,4	8,36	2,21	57,8	-
Heu V3-1	89,5	9,39	30,2	6,70	2,04	59,9	-
Heu V3-2	93,2	15,0	31,6	6,91	2,09	59,9	-
Mittel Heu	91,1	13,7	30,1	7,63	2,14	58,6	-

2.3.4 Enzymsupplementation und Vorbehandlung der inkubierten Futtermittel

Versuchsreihe 1 (Versuche V1-1 und V1-2)

Die Enzymzugabe erfolgte in Versuch V1-1 lediglich auf die inkubierte Maissilage mit Hilfe eines handelsüblichen Handsprühers verdünnt mit destilliertem Wasser, so dass jeweils 40 g einer Enzymlösung pro kg T Maissilage supplementiert wurde. Die Kontrollbehandlung (K) wurde mit 40 g destilliertem Wasser pro kg T Maissilage behandelt. Da das Ziel ein Enzymeinsatz unter praxisnahen Bedingungen war, wurde mit frischem Material gearbeitet. Um den Kauprozess der Kühe nachzuahmen wurde für den *in situ*-Versuch die Maissilage drei Tage bei -20 °C eingefroren und anschließend 2 Min gecuttert (Cutter, Sachsenwerk Dresden, Typ: LAD 358/4). Das gecutterte Material wurde weitere drei Tage bei -80 °C tiefgefroren, mit Hilfe einer Schneidmühle (Brabender Duisburg, Typ: 80800, 5 mm Sieb) gemahlen und bis zur weiteren Behandlung bei -20 °C tiefgefroren. Vor dem Besprühen der Maissilage mit der entsprechenden Enzymlösung wurde das Material leicht aufgetaut und auf Bleche verteilt. Um eine gute Verteilung der Enzyme zu gewährleisten, wurde die Enzymlösung bzw. bei der Kontrolle destilliertes Wasser mit der Hand mit dem Probenmaterial vermischt. Jede Behandlung wurde separat vorbereitet und sofort in die Nylonbags eingewogen.

Die Enzymzugabe in Versuch V1-2 erfolgte wiederum mit einer Enzymlösung aus Enzympräparat und destilliertem Wasser. Die Applikation wurde sowohl auf die *in sacco* untersuchten Futtermittel als auch auf die Gesamtration (TMR) durchgeführt. Dabei wurden bei den Enzymbehandlungen (A2, C2 und R3) 100 g Enzymlösung pro kg T inkubiertes Material und 136 g/ kg T TMR addiert. Die Kontrollgruppen (K) erhielten die gleichen Zugabemengen mit destilliertem Wasser. Folgende Futtermittel wurden der *in sacco*-Methode unterzogen: Körnermais, Gerste, Trockenschnitzel, Heu, Grassilage, Maissilage, Biertreber (frisch) und die verfütterte TMR. Bei der Auswahl des Probenmaterials wurde der NDF-Gehalt als Hauptkriterium angesehen. Körnermais wurde auf Grund des hohen Stärkeanteils für die Amylasebehandlung (A2) mitbepробt.

Die Futtermittel wurden wiederum einer Vorbehandlung unterzogen. Dabei wurden der Körnermais, die Gerste und die Trockenschnitzel mit Hilfe einer Hammermühle (HEW Herford, Typ D 42/ 2, 3 mm Sieb), das Heu mit der Schneidmühle (5 mm Sieb) zerkleinert. Da es sich bei Maissilage, TMR und Biertreber um frisches Material handelte, wurden diese vor der Zerkleinerung mit der Schneidmühle (5 mm Sieb) drei Tage bei -80 °C tiefgefroren. Die Maissilage und TMR wurden vor diesem Prozess mit Hilfe eines Cutters vorzerkleinert und homogenisiert. Dazu wurde das Material drei Tage bei -20 °C eingefroren und anschließend zwei Min gecuttern. Die Grassilage wurde lediglich zweimal diesem Cutterprozess unterzogen. Tabelle 10 gibt einen Überblick über die verschiedenen Aufbereitungsschritte. Das frische Probenmaterial wurde bis zur weiteren Behandlung bei -20 °C tiefgefroren.

Tab. 10: Überblick über die verschiedenen Aufbereitungsschritte der in Versuch V1-2 *in sacco* untersuchten Futtermittel

Futtermittel	Gefrierprozess		Cuttern	Mahlprozess	
	-20 °C	-80 °C		Hammermühle (3 mm Sieb)	Schneidmühle (5 mm Sieb)
Körnermais				x	
Gerste				x	
Trockenschnitzel				x	
Heu					x
Maissilage	x	x	x		x
TMR	x	x	x		x
Biertreber		x			x
Grassilage	xx		xx		

Versuchsreihe 2 (Versuch V2-1)

Die Enzymsupplementation in Versuchsreihe 2 erfolgte in Anlehnung an Versuch V1-2 verdünnt mit destilliertem Wasser, wobei 100 g der Enzymlösungen (Behandlungen R2 und R3) bzw. destilliertes Wasser (K) pro kg T Inkubationsmaterial und 134 g pro kg T TMR additiert wurden. Die Applikation auf die Futtermittel erfolgte wiederum mit Hilfe eines Handsprühers, die Zugabe auf die TMR um 16:30 Uhr des Vortags. Die behandelte Tagesration wurde wie in Versuch V1-2 bis zur Verfütterung am nächsten Tag bei 6 °C im Kühlraum gelagert. Im *in situ*-Versuch wurden die auch schon im Versuch V1-2 untersuchten Futtermittel Grassilage, Maissilage, Heu, die verfütterte TMR und Gerste untersucht, welche auch der gleichen Vorbehandlung unterzogen

wurden. Zusätzlich kamen die Eiweißfuttermittel Rapsextraktionsschrot, Sonnenblumenextraktionsschrot, getrocknete Getreideschlempe und getrockneter Biertreber zum Einsatz, welche mit einer Hammermühle (HEW Herford, Typ D 42/ 2) mit Einsatz eines 3 mm Siebes zerkleinert wurden.

Versuchsreihe 3 (Versuche V3-1 und V3-2)

Die in Versuch V3-1 der Versuchsreihe 3 untersuchten Futtermittel Maissilage, Heu, Gerste, Biertreber und Getreideschlempe stammten aus Versuch V2-1, um die Wirkung der verschiedenen Enzyme unter Ausschluss der Vorbehandlung und der Variabilität der Futtermittel vergleichen zu können. Zusätzlich wurde eine neu vorbereitete Grassilage inkubiert, welche in gleicher Weise wie in Versuch V1-2 beschrieben aufbereitet wurde. In Versuch V3-2 kamen mit Ausnahme der Maissilage die Futtermittel aus V3-1 zur Verwendung. Die Aufbereitung der neuen Maissilage wurde in gleicher Weise wie in Versuch V1-1 beschrieben durchgeführt. Das Enzym XB wurde in drei verschiedenen Konzentrationen bei den Kraftfuttermitteln Gerste, Biertreber und Getreideschlempe, die Cellulasebehandlungen (CT) bei den Grundfuttermitteln Heu, Grassilage und Maissilage beprobt. Die Enzymzugabe bei den Behandlungen XB3, CT3 und XPH3 (V3-1) bzw. XB1/2/3 und CT1/2/3 (V3-2) erfolgte wiederum in Form einer Enzymlösung aus Enzym und destilliertem Wasser lediglich auf das inkubierte Probenmaterial, wobei 100 g Enzymlösung pro kg T Probenmaterial mit Hilfe eines Handsprühers supplementiert wurden. Bei der Kontrollgruppe (K) wurde die gleiche Menge destilliertes Wasser addiert.

2.3.5 T-, Rohrnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der inkubierten Futtermittel

In Tabelle 11 sind die analysierten T-, Rohrnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der in den Versuchreihen 1 bis 3 *in sacco* untersuchten Futtermittel aufgelistet. Die in Versuch V3-2 eingesetzte Maissilage wies um im Mittel 4,8 % im Vergleich zu den Silagen aus den anderen Versuchen einen deutlich geringeren XF-Gehalt auf. Zudem wurde bei der Grassilage aus Versuch V2-1 ein deutlich geringerer T-Gehalt mit 29,8 % im Vergleich zu den Grassilagen aus den Versuchsreihen 1 und 3 mit Werten von 38,2 % (V1-2) bzw. 36,5 % (V3-1/2) ermittelt. Weiterhin ist zu beachten, dass in Versuch V1-2 frischer Biertreber mit einem T-Gehalt von 21,3 % verwendet

wurde, während in den Versuchreihen 2 und 3 getrockneter Biertreber mit einem T-Gehalt von 90,8 % zum Einsatz kam. Die in den Versuchreihen 2 und 3 beprobte Getreideschlempe zeigte mit 95,6 % einen sehr hohen T-Gehalt. In Versuchsreihe 1 (V1-1 bzw. V1-2) wurden auf Grund des Amylaseeinsatzes bei den stärkereichen Futtermitteln zusätzlich der Stärkegehalt analysiert. Die Rohnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der untersuchten Futtermittel zeigten nach NRC (2001) übliche Werte.

Tab. 11: T-, Rohnährstoff-, NDF- und Stärkegehalte der in den Versuchsreihen 1 bis 3 inkubierten Grund- und Kraftfuttermittel und TMRs

	T	XP	XF	XA	XL	NDF	Stärke
	(%)			(% in T)			
<u>Grundfuttermittel</u>							
Heu V1-2	85,1	16,6	29,1	9,07	2,14	56,6	-
Heu V2-1; V3-1/2	88,2	14,6	30,7	8,58	1,73	59,9	-
Maissilage V1-1	45,1	7,55	22,9	3,48	3,10	46,1	37,8
Maissilage V1-2	36,1	7,69	21,0	3,92	3,21	42,2	33,1
MaissilageV2-1; V3-1	42,0	7,84	20,6	3,13	3,47	42,3	-
Maissilage V3-2	41,2	9,02	16,7	2,99	3,65	39,9	-
Grassilage V1-2	38,2	16,7	23,5	15,0	3,87	42,4	-
Grassilage V2-1	29,8	18,2	26,2	11,3	3,65	40,7	-
Grassilage V3-1/2	36,5	18,5	24,8	13,9	4,22	41,3	-
<u>Kraftfuttermittel</u>							
Gerste V1-2	88,5	12,5	5,53	2,13	2,19	17,9	57,6
Gerste V2-1; V3-1/2	89,3	15,1	6,65	2,36	2,00	17,7	-
Körnermais V1-2	90,0	9,11	3,05	1,21	4,30	7,90	71,9
Trockenschnitzel V1-2	86,8	10,5	15,9	11,0	0,60	38,1	-
Biertreber V1-2	21,3	24,6	17,5	3,96	7,81	53,8	-
Biertreber V2-1; V3-1/2	90,8	23,6	18,6	4,55	9,03	52,5	-
Getreideschlempe V2-1; V3-1/2	95,6	38,2	10,6	5,51	4,82	36,8	-
Rapsextr.schrot V2-1	87,3	38,0	17,9	7,26	5,63	28,5	-
Sonnenbl.extr.schrot V2-1	89,7	41,8	21,1	7,98	2,69	31,2	-
<u>TMR</u>							
TMR V1-2	45,5	14,1	16,0	5,41	3,23	41,2	33,0
TMR V2-1	49,8	14,4	21,0	5,24	3,24	39,6	-

2.4 Methodik der *in sacco*-Abbaubarkeitsmessung

Die *in situ*-Abbaubarkeitsmessungen erfolgten in Anlehnung an FLACHOWSKY et al. (1988) sowie MADSEN und HVELPLUND (1994). Für die Durchführung der *in situ*-Messung wurden Beutel aus weißem Polyester-Monofilament mit den Abmessungen von 10 x 20 cm nutzbarer Fläche und einer Porengröße von $50 \pm 15 \mu\text{m}$ verwendet. Bei einer Einwaage von etwa 5,0 g T Probenmaterial pro Beutel entsprach dies nach dem Verschließen der Beutel mit Kabelbindern einem Verhältnis von etwa 12,5 mg T Einwaage pro cm^2 freier Beuteloberfläche. Da es sich bei den untersuchten Futtermitteln um "frisches" Material handelte, wurde vor der Einwaage eine Trockenmassebestimmung der aufbereiteten Futtermittel durchgeführt. Die leeren Beutel wurden vor der Einwaage und Inkubation bei 60 °C im Trockenschrank vorgetrocknet, im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und anschließend gewogen (Leergewicht). Nach dem Einwiegen der aufbereiteten Futtermittel wurden die Beutel mit Kabelbindern verschlossen und bei -20 °C im Gefrierraum gelagert. Am Tag vor der Panseninkubation wurden die Beutel über Nacht (15 h) bei 6 °C im Kühlraum aufgetaut und schließlich 20 (V1-1), 16 (V1-2), 18 (V2-1) bzw. 24 (V3-1/2) Stück mit Kabelbindern paarweise an elastischen Plastikstäben mit einer Länge von etwa 55 cm angebracht. Zur Inkubation wurde je ein Plastikstab pro Tier an einer 60 cm langen Nylonschnur an der Innenseite des Fistelverschlusses befestigt. Die Inkubation in den ventralen Pansensack begann stets mit der Morgenfütterung um 7:00 Uhr. Um die Enzyme nicht auszuwaschen erfolgte kein Einweichen der Beutel vor der Inkubation. Die Entnahme erfolgte nach 2, 4, 8, 16, 24, 48 und 72 Stunden in der Form, dass alle Beutel gemeinsam nach Ende der vorgesehenen Inkubationsdauer zeitgleich aus dem Pansen entfernt wurden. In Versuch V3-2 wurde auf die letzten drei Inkubationszeiten verzichtet. Nach der Entnahme aus dem Pansen wurden die Plastikstäbe mitsamt der Beutel in Eiswasser gelegt, um eine weitere Aktivität der Mikroorganismen in den Nylonbeuteln zu unterbinden. Danach wurden die Beutel von den Stäben entfernt, unter kaltem Wasser von anhaftenden Futterpartikeln befreit und anschließend in einer handelsüblichen Waschmaschine im Kaltwaschgang gewaschen. Die Beutel wurden nachfolgend gefriergetrocknet, im Exsikkator aufbewahrt und anschließend mit Inhalt zurückgewogen. Zur Bestimmung der Auswaschverluste wurden in den Versuchen V1-1 und V3-2 von jeder Behandlung, in den Versuchen V1-2, V2-1 und V3-1 lediglich von der Kontrollbehandlung pro

Futtermittel drei befüllte Beutel ohne vorherige Inkubation der Waschprozedur unterworfen, gefriergetrocknet und gewogen.

2.5 Ermittlung der Messparameter

2.5.1 Kalkulation der T- bzw. NDF-Verluste und der effektiven Abbauraten

Die durch die Panseninkubation gemessenen Trockensubstanzverluste aus den Nylonbeuteln wurden je Behandlung und Futtermittel als Mittelwert der Wiederholungen zusammengefasst. Die weitere Verrechnung erfolgte auf Basis eines exponentiellen Modells von ØRSKOV und McDONALD (1979). Zur weiteren Charakterisierung des Wirkungsorts der Enzyme wurden neben dem T-Verlust zusätzlich der NDF-Verlust nach definierten Inkubationszeiten (0, 4 bzw. 8 h) ermittelt. In Versuch V1-1 erfolgte die Bestimmung bei den Auswaschverlusten (0 h) und nach 8 h Inkubationszeit bei den Behandlungen K, C3 und R3. In Versuch V1-2 wurden bei den Behandlungen K, C2 und R3 bei den Grundfuttermitteln Grassilage, Maissilage, TMR und Heu der NDF-Verlust nach 8 h Inkubationszeit, bei den Kraftfuttermitteln Biertreber, Gerste, Körnermais und Trockenschnitzel nach 4 h Inkubationszeit analysiert. Bei den Amylasebehandlungen wurde auf Grund des Wirkungsortes der Amylase, der Stärke, auf die Bestimmung des NDF-Verlustes verzichtet. In Versuchsreihe 2 (Versuch V2-1) erfolgte die Analytik bei allen drei Behandlungen (K, R2 und R3) bei allen *in situ* untersuchten Futtermitteln nach 4 h Inkubationszeit. In den Versuchen V3-1 und V3-2 der Versuchsreihe 3 wurden die NDF-Verluste nach 4 h Inkubationsdauer analysiert. Da in Versuch V3-2 wie auch in Versuch V1-1 die Nullstunden mit den Enzymen behandelt wurden, erfolgte hier zudem die Analyse des NDF-Verlustes. Die Bestimmung wurde in Anlehnung an den T-Verlust tierindividuell mit der Mischprobe aus den zwei Beuteln pro Tier und Behandlungsvariante durchgeführt.

Die Trockensubstanz- bzw. NDF-Verluste der inkubierten Futtermittel wurden anhand folgender Formel berechnet:

$$\text{VERLUST (\%)} = \frac{\text{Einwaage (g)} - \text{Rückwaage (g)}}{\text{Einwaage (g)}} \times 100$$

Die effektive ruminale Trockenmasseabbaubarkeit (P, %) der verschiedenen untersuchten Futtermittel in Abhängigkeit der Behandlung wurde mittels folgender Gleichung nach McDONALD (1981) kalkuliert:

$$P = a + \frac{b \times c}{(c + k)} \times e^{-(c + k) t_0}$$

Dabei stellt die Fraktion a (%) den Anteil der Trockenmasse, der zu Beginn der Inkubation in Lösung geht (lösliche oder schnell abbaubare Fraktion), b (%) die nicht lösliche aber im Pansen abbaubare Fraktion, c (%/ h) die konstante Abbaurate der Fraktion b und t_0 die lag time dar. Die Summe aus a + b gibt die potentiell abbaubare Fraktion d des Futtermittels wieder. Die lag time stellt die Zeitphase vom Zeitpunkt der Inkubation bis zum messbaren Beginn des Abbaus (Verzögerungszeit) dar. Die nicht-linearen Parameter a, b, c und t_0 wurden mit der NLIN-Prozedur von SAS (SAS Institute Inc., Vers. 8.2, 1989) auf Basis des Standard-Algorithmus nach MARQUARDT (1963) geschätzt. Der Parameter k beschreibt den Schätzwert der Passagerate der verschiedenen Futtermittel aus dem Pansen. Um den Effekt der Enzymprodukte unter verschiedenen Fütterungs- und Leistungsniveaus bei Wiederkäuer einschätzen zu können, wurden Passageraten von 2, 4, 6 und 8 %/ h in die Berechnung miteinbezogen. Dabei steht die Passagerate von $k=0,02$ für ein niedriges, die Passageraten von $k=0,04$ und $k=0,06$ für ein mittleres und $k=0,08$ für ein hohes Futteraufnahmeniveau (AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL, 1984). Nach AFRC (1993) entspricht eine Passagerate von 8 %/ h ($k=0,08$) dem Fütterungsniveau einer Milchkuh mit einer Leistung ≥ 30 kg Milch/ Tag bzw. einer mittleren täglichen Futter-

aufnahme von 19-20 kg T. Bei einer Passagerate von 2, 4 und 6 %/ h können theoretische T-Futteraufnahmen von 8-9, 12-14 und 16-17 kg pro Tier und Tag unterstellt werden. Diese Annahmen verschiedener Leistungsniveaus zeigt sich in besonderem Maße als nicht unerheblich, da mit zunehmender Futteraufnahme die Verweildauer des Futters im Pansen reduziert wird, was wiederum einen geringeren ruminalen Abbau der einzelnen Futterpartikel zur Folge hat.

2.5.2 Verdaulichkeitsmessung in den Versuchen V1-2 und V2-1

In den Versuchen V1-2 und V2-1 wurden unter Verwendung einer Markerstudie mit Titandioxid (TiO₂) der Einfluss der Enzymzulage auf die Verdaulichkeit der Gesamtration ermittelt. Dabei wurden der TMR 0,10 % (T Basis) TiO₂ beigemischt. Die Kotentnahme wurde an vier aufeinanderfolgenden Tagen (Tage 7-10 der Messperiode) rektal um 8:30 Uhr durchgeführt. Pro Kuh und Tag wurden 200 g Frischmasse entnommen, so dass 800 g Kot pro Tier und Durchgang zur Verfügung standen. Der entnommene Kot wurde auf Bleche kuhweise gesammelt und sofort nach der Entnahme bei -20 °C eingefroren. Nach der Gefriertrocknung der Proben erfolgte die Vermahlung auf 1 mm unter Einsatz der Schneidmühle (Brabender Duisburg, Typ: 80800). Die Verdaulichkeit von organischer Masse, Rohfaser, NDF und Stärke wurde aus der Konzentrationsänderung der Bezugssubstanz (TiO₂) von Futter zu Kot nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Verdaulichkeit (\%)} = 100 - \frac{\text{Indikator im Futter (\%)} \times \text{Inhaltstoff im Kot (\%)}}{\text{Indikator im Kot (\%)} \times \text{Inhaltstoff im Futter (\%)}} \times 100$$

2.5.3 Ermittlung der Pansenparameter

Am Ende jeder Messperiode wurden die Pansenparameter pH-Wert, der Gehalt an $\text{NH}_3\text{-N}$ und die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren Essig-, Butter- und Propionsäure ermittelt. Da die Enzyme in den Versuchen V1-1, V3-1 und V3-2 lediglich auf die *in sacco* untersuchten Futtermittel additiert wurden, dienten die Parameter zur näheren Charakterisierung des Pansenmilieus der Versuchstiere. Dabei wurden an sieben Entnahmezeitpunkten um 7:00, 7:30, 8:00, 8:30, 9:30, 10:30 und 11:30 Uhr (V1-1) bzw. 7:00, 7:30, 8:00, 9:00, 10:00, 11:00 und 12:00 Uhr (V3-1 und V3-2) mit einer „Maul-Pansen-Sonde“ unter zu Hilfenahme des Melkvakuums über die Fistel aus dem ventralen Pansensack ca. 1000 ml Pansenflüssigkeit pro Kuh und Entnahmezeit gezogen. Der pH-Wert und $\text{NH}_3\text{-N}$ wurden von jeder Probe, die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren nur 210 (V1-1) bzw. 180 Min (V3-1 und V3-2) nach der Fütterung ermittelt. Der Gehalt an FFS lag im Mittel der drei Versuche für Essigsäure bei 51,4 mmol, für Propionsäure bei 14,0 mmol und für Buttersäure bei 9,04 mmol pro Liter Pansensaft. Die Mittelwerte je Versuch sind in Tabelle 12 dargestellt. Das Verhältnis von C2- zu C3- Fettsäuren (Acetat zu Propionat) lag im Mittel der Versuche bei 3,7:1.

Tab. 12: Mittlere Essig-, Propion- und Buttersäurekonzentrationen im Pansensaft der Versuchstiere der Versuche V1-1, V3-1 und V3-2

	Entnahme	Essigsäure	Propionsäure	Buttersäure
		(mmol/l)		
Versuch V1-1	10:30 Uhr	54,7 ± 8,31	12,7 ± 2,10	7,60 ± 1,80
Versuch V3-1	10:00 Uhr	49,1 ± 2,74	14,4 ± 0,70	9,30 ± 1,33
Versuch V3-2	10:00 Uhr	50,3 ± 1,64	14,8 ± 0,00	10,2 ± 2,27
Mittel		51,4 ± 2,94	14,0 ± 1,11	9,04 ± 1,31

In den Abbildungen 1, 2 und 3 sind die mittleren pH-Werte und Gehalte an $\text{NH}_3\text{-N}$ mit Standardabweichung im Pansensaft der Tiere aus den Versuchen V1-1, V3-1 und V3-2 dargestellt. In Versuch V1-1 wurde der höchste pH-Wert vor der Fütterung (7:00 Uhr) mit einem Wert von $7,06 \pm 0,11$, das Minimum mit $6,65 \pm 0,09$ eine Stunde nach der Fütterung ermittelt. Der $\text{NH}_3\text{-N}$ im Pansensaft betrug vor der Fütterung $7,52 \pm 3,46$ mg/ 100 ml, stieg 60 Min nach der Fütterung bis auf $18,3 \pm 4,17$ mg/ 100 ml an

und erreichte 270 Min nach der Fütterung sein Minimum ($5,34 \pm 2,03$ mg/ 100 ml). Ein ähnliches Bild ergab sich auch in der Versuchsreihe 3. Die pH-Maximas wurden wiederum mit Werten von $7,04 \pm 0,12$ (V3-1) bzw. $7,05 \pm 0,08$ (V3-2) vor der Fütterung analysiert; 30 Min nach der Fütterung zeigte sich ein deutliches Absinken der pH-Werte auf $6,70 \pm 0,07$ (V3-1) bzw. $6,54 \pm 0,14$ (V3-2). Die gemessenen $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalte stiegen nach erfolgter Fütterung wiederum stark an und erreichten 60 Min nach Fütterungsbeginn Maximas von $14,3 \pm 2,72$ (V3-1) bzw. $15,5 \pm 1,53$ (V3-2) mg/ 100 ml. Der für eine optimale mikrobielle Proteinsynthese erforderliche Grenzwert von 5,00 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ pro 100 ml (SATTLER und ROFFLER, 1975; SLYTER et al., 1979) wurde mit Ausnahme der letzten Entnahmezeit in Versuch V3-1 ($4,68 \pm 1,39$ mg/ 100 ml) nicht unterschritten. Der pH-Wert lag mit einem Mittelwert von 6,77 über alle drei Versuche und Messpunkte auf einem hohen Niveau.

Da in den Versuchen V1-2 und V2-1 die Enzyme auch über das Futter verabreicht wurden, diente die Entnahme der Pansenflüssigkeit zur Feststellung einer Beeinflussung der pansenphysiologischen Kenngrößen durch die Enzyme. Der Pansensaft wurde an acht Entnahmezeiten (7:00, 7:30, 8:00, 9:00, 10:00, 11:00, 12:00 und 13:00 Uhr) entnommen und zu jeder Entnahmezeit wurden pH-Wert, $\text{NH}_3\text{-N}$ und die Konzentration an flüchtigen Fettsäuren bestimmt. Die Werte aus diesen Versuchen sind im Ergebnisteil dargestellt.

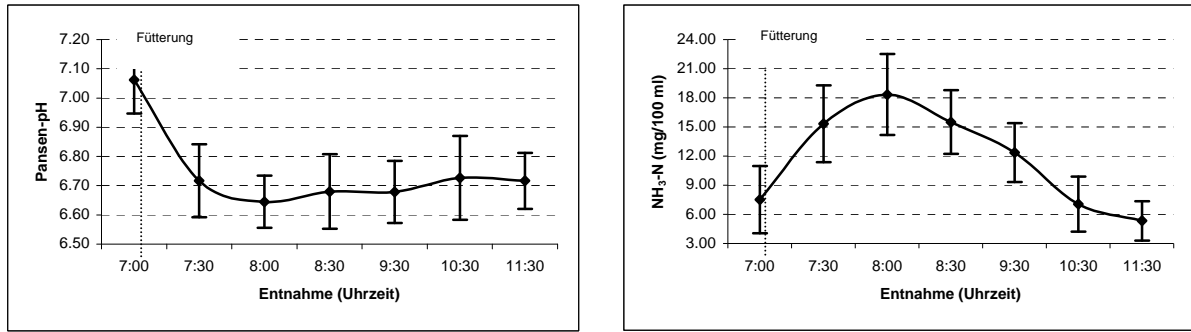


Abb. 1: Mittlerer Verlauf des pH-Wertes und des Gehaltes an NH₃-N im Pansensaft der Versuchstiere (n=6) zum Ende von Versuch V1-1 (± SD)

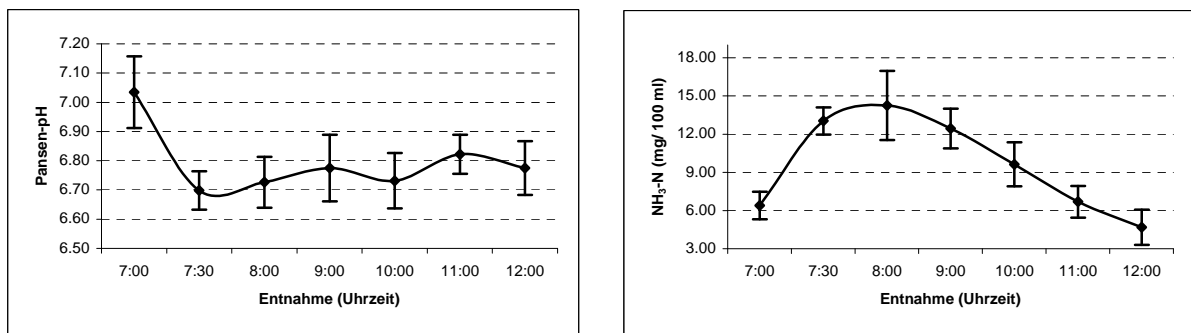


Abb. 2: Mittlerer Verlauf des pH-Wertes und des Gehaltes an NH₃-N im Pansensaft der Versuchstiere (n=6) zum Ende von Versuch V3-1 (± SD)

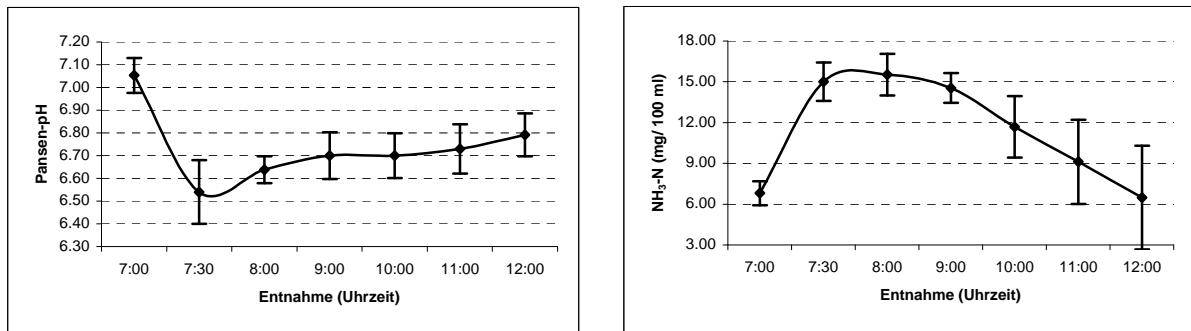


Abb. 3: Mittlerer Verlauf des pH-Wertes und des Gehaltes an NH₃-N im Pansensaft der Versuchstiere (n=6) zum Ende von Versuch V3-2 (± SD)

2.5.4 Ermittlung der Bakterienpopulation in Versuch V2-1

Um den Einfluss der Roxazymezulagen in den Dosierungen 13,8 g/ kg T (R2) bzw. 27,7 g/ kg T (R3) auf die Bakterienpopulation im Pansen der Versuchstiere zu bestimmen, wurden jeweils an den letzten beiden Versuchstagen jedes Durchganges (n=3) aus Versuch V2-1 Pansenproben gezogen. Mit der Absicht, einen möglichst großen Einblick in die bakterielle Besiedlung des Pansens unter Enzymzulagen zu bekommen, wurden Proben sowohl aus der festen als auch aus der flüssigen Phase des Pansens entnommen. Zudem erfolgte die Bestimmung der sechs ausgewählten Pansenbakterienarten (*Anaerovibrio lipolytica*, *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Selenomonas ruminantium* und *Treponema bryantii*) an drei Entnahmezeiten (ZEITZ, 2007). Auf Grund der aufwendigen Probenaufbereitung und einer eventuellen Störung der pansenphysiologischen Parameter vorzubeugen, teilte sich die Probenahme auf zwei Tage auf: am Tag 30 jedes Versuchsdurchganges erfolgte die Entnahme unmittelbar vor der Fütterung sowie 7 h nach der Fütterung, Tag 31 beinhaltete die Entnahme 3 h nach der Fütterung. Die Proben wurden bei jeder der sechs Kühe aus der festen (ca. 20 bis 25 cm unter der Gasblase) und flüssigen Phase (Übergangsbereich feste und flüssige Phase) nach einer speziellen Probenahmetechnik, entwickelt von TAJAJ et al. (2004), gezogen. Dazu kam als Entnahmegerät ein Zylinder mit verschließbarer Öffnung zum Einsatz, wodurch eine exakte Entnahme an definierten Stellen im Pansen möglich war.

Für eine Probe aus der festen Phase des Pansens waren 2 Füllungen mit dem Entnahmestab, insgesamt ca. 500 g, nötig. Die Pansenflüssigkeit wurde von den Futterpartikeln getrennt, die Partikel wurden in einen Eimer gefüllt und mit der Hand vermischt. 400 g der Futterpartikel wurden in einer eisgekühlten Schüssel 1:1 mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung (Temp. 6 °C) verdünnt und in einem Mixer (Waring Blendor, Waring Products Division, New Hartford, America) auf Stufe low für 30 sec gemixt. Mit diesem Schritt sollten die an die Faser anhaftenden Bakterien abgelöst und in den flüssigen Bereich überführt werden. Anschließend erfolgte eine Filtration durch vierfache Gaze; das Filtrat (Flüssigkeit 1) floss zur Weiterverwendung in einen Becher. Der aus festen Partikeln bestehende Filtrerrückstand wurde ein zweites Mal mit 400 ml NaCl versetzt, gemixt und filtriert. Das Filtrat (Flüssigkeit 2) wurde in den Becher mit Flüssigkeit 1 dazugegeben und anschließend mit einem Plastikstab von Hand vermischt. Die anschließende Zentrifugation erfolgte im Kühlraum (6 °C) in

einer Multex-Zentrifuge (MSE, London, UK) für 15 Min bei ca. 2400 U/ Min. Eine Probe war dabei aufgrund des Fassungsvermögens der Zentrifugenbecher (90 ml) auf drei Becher verteilt. Der Überstand der drei Zentrifugenbecher einer Probe wurde in einen gemeinsamen Becher abdekantiert und gemischt. Ca. 70 g der Probe wurden für einen weiteren Zentrifugationsschritt in zwei Becher (Fassungsvermögen 35 g) eingewogen. Durch die nun folgende High-Speed-Zentrifugation (Kühlzentrifuge) bei 27000 g und 4 °C für 40 Min wurde ein Absetzen der Bakterien als Sediment erreicht. Der Überstand wurde abdekantiert und verworfen, das Sediment je Probenbecher mit je 1 ml MiliQ-Wasser in zwei 2 ml-Eppendorf Tubes überspült. Die Probentubes wurden bis zur Analyse bei -80 °C gelagert.

Für eine Probe aus der flüssigen Phase waren zwei Füllungen mit dem Entnahmestab, insgesamt ca. 500 ml, nötig. Der entnommene Pansensaft wurde durch vierfache Gaze filtriert, um noch vorhandene Futterpartikel zu entfernen. Ein auf Eis gekühlter 1000 ml Plastikbecher enthielt dann die filtrierte Pansenflüssigkeit zur Weiterverwendung. Von dieser Flüssigkeit wurden 300 ml 1:1 mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung (Temp. 6 °C) versetzt und mit einem Stab gemischt. Auch bei diesem Schritt lagerten die Proben auf Eis. Diese Flüssigkeit, die nur die Bakterien der Pansenflüssigkeit enthielt, wurde anschließend für die erste Zentrifugation im Kühlraum wiederum in Zentrifugenbecher abgewogen. Im Folgenden war das Verfahren mit dem Verfahren für die Proben aus der festen Phase identisch.

Insgesamt waren nach Probenahme und Probenaufbereitung 108 Proben vorhanden, die im Folgenden zum einen auf das Vorhandensein bakterieller DNA bzw. spezifischer DNA der ausgewählten Bakterienarten mittels konventioneller PCR und Gelelektrophorese zum anderen auf die spezifischen DNA-Konzentrationen der sechs Bakterienarten im Verhältnis zur gesamten bakteriellen (16S) DNA-Konzentration im Pansen mittels Real Time Quantitative PCR untersucht wurden. Die Analytik und Auswertung wurde im Rahmen einer Diplomarbeit (ZEITZ, 2007) durchgeführt, aus welcher weitere Angaben über die verwendeten Analysen- und Berechnungsmethoden zu entnehmen sind.

2.6 Analytische Methoden

2.6.1 Trockensubstanz- und Rohnährstoffanalytik sowie Bestimmung der TiO₂-Gehalte im Futter und im Kot

Die Analytik der Rohnährstoffe (XA, XL und XF) im Probenmaterial der Versuchsreihen 1 bis 3, in den verfütterten Komponenten und im Kot der Versuchstiere erfolgte an der Versuchsanstalt für Tierernährung der TU München nasschemisch mittels Weender-Analyse (NAUMANN und BASSLER, 1976). Von der TMR wurden Mischproben aus je zwei Mischtagen pro Woche angefertigt und analysiert. Die Trockensubstanzbestimmung erfolgte im Trockenschrank bei 105 °C. Dabei wurden 3 g der Probe eingewogen, drei Stunden getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und zurückgewogen. Die T-Bestimmung der TMRs wurde im Rahmen der Gefrier-trocknung durchgeführt. Die Rohproteinbestimmung (XP) wurde am ZIEL in Freising-Weihenstephan mittels Verbrennungsanalyse in Lekko-Automaten (FP-528) (VDLUFA, 2004) durchgeführt. Der TiO₂-Gehalt in der TMR und in den Kotproben (Versuche V1-2 und V2-1) wurde nach der Methode von BRANDT und ALLAM (1987) bestimmt. Dabei wird TiO₂ in heißer, konzentrierter Schwefelsäure langsam löslich und bildet in schwefelsauren Lösungen mit Wasserstoffperoxid einen stabilen, gelben Farbkomplex. Dieser Farbkomplex wird bei 405 nm gemessen.

2.6.2 NDF- und Stärkeanalytik

In den Diäten der Versuchsreihen 1 bis 3, in den *in sacco* beprobten Futtermitteln, im Kot der Versuchstiere und in den Residuen optional nach 0, 4 und 8 h Inkubationszeit erfolgte die Bestimmung an Neutraler Detergentienfaser (NDF). In diesem als Zellwandsubstanz bezeichneten Stoffanteil sind Hemicellulosen, Cellulose und Lignin enthalten. Die Analyse (nach der Vermahlung des Probenmaterials auf 1 mm) wurde nach dem Prinzip der von GOERING und VAN SOEST (1970) beschriebenen Detergentienmethode durchgeführt. Die technische Ausführung erfolgte in Anwendung der Filterbeutel-Technik (Link:http://www.ankom.com/09_procedures/procedures.shtml) mittels ANKOM 220-Fiber Analyzer (Ankom Technology, Fairport, NY, USA). Dabei wurden 0,5 g des Probenmaterials in doppelter Wiederholung in tarierten, verschweißbaren Polyethylen-Filterbeuteln (Ankom F57) eingewogen. In

dem druckbeständigen Reaktionskessel mit Schwenkvorrichtung des ANKOM220-Fiber Analyzer konnten gleichzeitig 24 Filterbeutel den 98 °C heißen Detergentien ausgesetzt werden. Nach der Reaktionszeit (80 Min) wurden die Proben dreimal für jeweils 5 Min mit kochendem, destilliertem Wasser gespült. Bei den stärkereichen Futtermitteln wurden 2 ml/l einer hitzestabilen Amylase der NDF-Lösung und den ersten beiden Spülvorgänge hinzugefügt. Bei den Futtermitteln mit einem Fettanteil >5 % erfolgte eine Vorbehandlung mit Aceton. Nach dem Spülen wurde das überschüssige Wasser durch leichtes Ausdrücken aus den Filterbeuteln entfernt. Die Filterbeutel wurden in einem Becherglas mit Aceton überschichtet und 3 Min im Aceton geschwenkt. Überschüssiges Aceton wurde anschließend vorsichtig ausgepresst, die Beutel zunächst an der Luft vorgetrocknet, dann vier Stunden bei 105 °C in einem Umlufttrockenschrank fertiggetrocknet, im Exikkator abgekühlt und anschließend zurückgewogen. Auf eine Rohaschebereinigung der Residuen wurde verzichtet. Der NDF-Gehalt errechnete sich nach folgender Formel:

$$\text{NDF (\%)} = \frac{W3 - (W1 \times C1)}{W2 \times \text{DM}} \times 100$$

W1 = Beutelgewicht
W2 = Probengewicht
W3 = Beutelgewicht mit Faser nach Extraktionsprozess
DM = Trockenmassegehalt der Proben
C1 = Beutelkorrektur

Auf Grund der Amylasebehandlung in Versuchsreihe 1 wurden in der Maissilage, in den TMRs, im Kot und im stärkereichen Probenmaterial der Stärkegehalt ermittelt. Die Analytik erfolgte enzymatisch nach der Methodik von SEIDLER et al. (1988).

2.6.3 Bestimmung des pH-Wertes im Pansensaft

Der pH-Wert des Pansensaftes wurde unmittelbar nach der Entnahme mit einem geeichten pH-Meter (Schott Mainz, Typ: CG 842) bestimmt.

2.6.4 Bestimmung des Ammoniakgehaltes im Pansensaft

Zur Messung des Ammoniakgehaltes wurde die gewonnene Pansensaftprobe unmittelbar nach der Entnahme mittels Pansenfistel 15 Min bei 4458 g zentrifugiert (Multex, MSE London), der Überstand abpipettiert und eingefroren. Die Analyse des Ammoniakgehaltes im Pansensaft wurde am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung (ZIEL) in Freising-Weihenstephan nach einer modifizierten Methode nach CONWAY (1957) durchgeführt (Methodenbuch III der LUFA, Vorschrift 4.8.1, 1976). Zur Berechnung des $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehaltes wurde der gemessene Ammoniakgehalt mit 0,8235 multipliziert.

2.6.5 Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft

Die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren erfolgte gaschromatographisch am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung in Freising-Weihenstephan. Jede Pansensaftprobe wurde kurz nach der Entnahme über die Pansenfistel in Anlehnung an die von GEISSLER et al. (1976) beschriebenen Methode 5 Min bei 4458 g zentrifugiert. Aus dem Überstand wurde ein Aliquot von 10 ml entnommen, mit 1,5 ml 25-prozentiger Meta-Phosphorsäure und 0,5 ml Ameisensäure versetzt und anschließend erneut für 20 Min bei 4912 g zentrifugiert. Die Probe wurde dann nach Zusatz eines Tropfens gesättigten Quecksilberchlorids (HgCl_2) gefrierstabil bei -20 °C bis zur weiteren Analytik am ZIEL gelagert.

2.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit einer PC-Version des Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., Vers. 8.2, 1989). Die Daten wurden varianzanalytisch mit der GLM-Prozedur von SAS mittels DUNCAN-Test ($P < 0,05$) (DUNCAN, 1955) durchgeführt. Für den Vergleich der Mittelwerte innerhalb einer Messgröße wurde das Modell der einfaktoriellen Varianzanalyse (Enzymart bzw. Enzymkonzentration) zugrunde gelegt.

Modell der einfaktoriellen Varianzanalyse:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = Beobachtungswert am Tier j in der i-ten Behandlung

μ = Gesamtmittelwert

A_i = Effekt der i-ten Behandlung

ε_{ij} = Restfehler

Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen sind durch hochgestellte Kleinbuchstaben gekennzeichnet. Im Ergebnisteil wurden die Mittelwerte und die dazugehörigen Standardabweichungen (SD) sämtlicher Daten tabellarisch aufgelistet. Zusätzlich sind der MSE (standard error of the mean) und die dazugehörigen P-Werte aufgeführt. Die dazugehörigen Einzelwerte sind im Tabellenanhang dargestellt. In Versuch V1-1 konnten auf Grund des fehlenden Konvergenzkriteriums innerhalb der NLIN-Prozedur nach MARQUARDT (1963) bei den Behandlungen R1 und R3 für die statistische Auswertung der *in sacco*-Parameter und der effektiven Abbaubarkeiten nur jeweils fünf Wiederholungen berücksichtigt werden.

3 Ergebnisse

3.1 Versuchsreihe 1

In Versuchsreihe 1 wurden in zwei Einzelversuchen (V1-1 und V1-2) die Enzympräparate Amylase 7b® (A), Celluclast® 1.5 L (C) und Roxazyme® G2 Liquid (R) auf Ihre Wirksamkeit überprüft. Versuch V1-1 setzte sich mit der Frage der Dosierung der Enzyme auseinander. Als Beprobungsmaterial für den *in situ*-Versuch wurde Maissilage gewählt. In Versuch V1-2 wurden in zwei Durchgängen der Effekt der Enzyme in einer definierten Konzentration auf die Abbaubarkeit von insgesamt acht Futtermittel überprüft. Zudem kamen als zusätzliche Messparameter die Gesamtverdaulichkeit der verfütterten Ration und Pansenparameter zur Verwendung.

3.1.1 Versuch 1-1: Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen von Amylase 7b®, Celluclast® und Roxazyme® auf die Abbaubarkeit von Maissilage

In Versuch V1-1 wurden die Enzymprodukte Amylase 7b®, Celluclast® 1.5 L und Roxazyme® G2 Liquid in drei Konzentrationsstufen auf ihre Wirksamkeit auf Maissilage im Vergleich zu einer Kontrollbehandlung (K) getestet. Die Supplementierung erfolgte lediglich auf das Beprobungsmaterial. Nachfolgend werden zum einen die einzelnen Enzympräparate in Abhängigkeit ihrer Konzentrationsstufe 1 bis 3 verglichen, zum anderen erfolgt eine Gegenüberstellung der Enzyme innerhalb der Konzentrationsstufen.

3.1.1.1 T-Verlust *in sacco*

Einfluss der Enzymkonzentration

In Tabelle 13 sind die T-Verluste der Amylasebehandlungen (A1-A3), der Celluclastbehandlungen (C1-C3) und der Roxazymebehandlungen (R1-R3) im Vergleich zur Kontrolle (K) dargestellt. Bei der Betrachtung der **Amylasebehandlungen** konnten keine Effekte des Enzyms festgestellt werden, wohingegen ein deutlicher Konzentrationseffekt bei **Celluclast®** in den ersten acht Inkubationsstunden beobachtet wurde. Bei Ermittlung der Auswaschverluste (0 h) zeigte sich eine signifikante Erhöhung des T-Verlustes bereits in der geringsten Dosierung (C1) mit einem Wert von 51,7 % (C1) im Vergleich zur Kontrolle mit einem Verlust von 50,1 %. Nach 2 und 4 h Inkubation wurde der signifikant höchste Verlust bei der hohen Konzentration C3 ermittelt. Die Behandlungen C1 und C2 unterschieden sich nicht signifikant, waren jedoch signifikant erhöht im Vergleich zur Kontrolle. Nach 8 h Inkubationsdauer zeigten nur die Behandlungen C2 (54,7 %) und C3 (55,3 %) signifikante Unterschiede im T-Verlust im Vergleich zur Kontrolle (52,4 %). Bei der Betrachtung der **Roxazymebehandlungen** (R1-R3) wird deutlich, dass in den ersten vier Inkubationsstunden (2 h und 4 h) einschließlich der 0 h lediglich bei der Konzentrationsstufe 3 ein signifikanter Effekt auf den T-Verlust erreicht werden konnte. Ab 8 h Inkubationsdauer wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen festgestellt.

Es zeigte sich bei der Betrachtung der einzelnen Enzyme, dass Amylase 7b® keinen Effekt, Celluclast® in Abhängigkeit der Dosierung und Roxazyme G2 Liquid® nur in der höchsten Konzentration einen Effekt auf den T-Verlust bei Maissilage aufwies. Zudem ist eine signifikante Verbesserung des T-Verlustes auf die ersten acht Inkubationsstunden begrenzt.

Tab. 13: Konzentrationseffekte von Amylase® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) auf den T-Verluste (%) der Maissilage aus V1-1 in Abhängigkeit der Inkubationszeit in Bezug zur Kontrolle (K) (± SD)

	Behandlung				MSE	P-Wert
	K*	A1	A2	A3		
Amylase	(0 g/ kg T)	(4,04 g/ kg T)	(8,08 g/ kg T)	(16,2 g/ kg T)		
0 h	50,1 ± 0,72	50,7 ± 0,40	50,0 ± 0,17	50,6 ± 0,15	0,143	0,156
2 h	46,5 ± 0,48	46,5 ± 0,71	46,7 ± 0,58	47,0 ± 0,54	0,119	0,441
4 h	49,1 ± 0,90	49,2 ± 1,39	49,1 ± 0,80	49,4 ± 0,47	0,182	0,949
8 h	52,4 ± 1,98	52,7 ± 2,14	53,1 ± 3,01	53,0 ± 3,11	0,500	0,964
16 h	62,7 ± 3,46	63,9 ± 2,40	63,3 ± 3,40	63,8 ± 3,12	0,603	0,899
24 h	70,9 ± 2,32	70,3 ± 2,18	69,3 ± 3,06	69,7 ± 4,69	0,626	0,838
48 h	79,1 ± 1,26	78,7 ± 2,78	78,4 ± 1,97	79,6 ± 0,48	0,360	0,716
72 h	81,4 ± 3,15	81,4 ± 2,80	81,1 ± 2,44	81,2 ± 3,07	0,549	0,996
Celluclast	K	C1	C2	C3		
	(0 g/ kg T)	(3,39 g/ kg T)	(6,78 g/ kg T)	(13,6 g/ kg T)		
0 h	50,1 ^b ± 0,72	51,7 ^a ± 0,04	51,2 ^a ± 0,35	52,0 ^a ± 0,19	0,236	0,003
2 h	46,5 ^c ± 0,48	48,3 ^b ± 0,85	48,2 ^b ± 1,08	49,3 ^a ± 0,63	0,260	< 0,001
4 h	49,1 ^c ± 0,90	50,3 ^b ± 0,42	50,3 ^b ± 0,68	51,3 ^a ± 0,91	0,216	< 0,001
8 h	52,4 ^b ± 1,98	54,2 ^{ab} ± 1,58	54,7 ^a ± 1,16	55,3 ^a ± 1,18	0,365	0,020
16 h	62,7 ± 3,46	64,7 ± 1,85	63,0 ± 4,01	63,3 ± 2,64	0,612	0,682
24 h	70,9 ± 2,32	70,4 ± 3,73	70,6 ± 2,44	70,0 ± 3,94	0,612	0,965
48 h	79,1 ± 1,26	79,2 ± 1,96	78,9 ± 2,00	79,4 ± 1,53	0,328	0,967
72 h	81,4 ± 3,15	82,6 ± 1,23	81,6 ± 3,08	81,9 ± 2,27	0,496	0,849
Roxazyme	K	R1	R2	R3		
	(0 g/ kg T)	(6,92 g/ kg T)	(13,8 g/ kg T)	(27,7 g/ kg T)		
0 h	50,1 ^b ± 0,72	50,5 ^b ± 0,37	50,5 ^b ± 0,40	52,2 ^a ± 0,60	0,285	0,005
2 h	46,5 ^b ± 0,48	47,0 ^b ± 0,74	47,4 ^b ± 0,95	49,0 ^a ± 0,81	0,241	< 0,001
4 h	49,1 ^b ± 0,90	49,5 ^b ± 0,91	49,7 ^b ± 0,78	51,2 ^a ± 0,77	0,229	0,002
8 h	52,4 ± 1,98	53,0 ± 3,24	53,6 ± 2,85	55,7 ± 1,97	0,554	0,164
16 h	62,7 ± 3,46	64,9 ± 2,98	66,0 ± 1,33	65,9 ± 2,10	0,567	0,131
24 h	70,9 ± 2,32	70,9 ± 1,56	70,3 ± 3,50	69,3 ± 3,89	0,581	0,767
48 h	79,1 ± 1,26	78,0 ± 3,86	78,8 ± 1,54	78,9 ± 2,60	0,490	0,870
72 h	81,4 ± 3,15	81,5 ± 1,95	82,1 ± 1,30	82,4 ± 1,14	0,397	0,845

*Kontrolle (K) wurde nur einmal ermittelt und für den Vergleich der Enzymbehandlungen übernommen

Vergleich der Enzympräparate in Abhängigkeit der Konzentrationsstufen 1 bis 3

Um die Enzympräparate untereinander vergleichen zu können, wurden diese in Abhängigkeit ihrer Konzentrationsstufe gegenübergestellt. In Tabelle 14 sind entsprechend die Konzentrationsstufen 1, 2 und 3 dargestellt. Bei der Betrachtung der verschiedenen Behandlungen in der **Konzentrationsstufe 1** zeigte sich eine signifikante Erhöhung im T-Verlust bei der Behandlung C1 nach zweistündiger Inkubation und in den Nullvarianten. In der **Konzentrationsstufe 2** konnte diese Erhöhung im Vergleich zu R2 nach zweistündiger Inkubationsdauer nicht mehr signifikant abgesichert werden. Jedoch wurde eine Verbesserung zur Amylasebehandlung auch noch in der vierstündigen Inkubationsphase festgestellt. Beim Vergleich der **Konzentrationsstufe 3** erfolgte ein Angleichen zwischen den Celluclast- und Roxazymebehandlungen, welche sich bis einschließlich 4 h Inkubationsdauer signifikant positiv von der Behandlung A3 unterschieden.

Der Vergleich der Enzymprodukte ergab, dass bis zur Konzentrationsstufe 2 das Präparat Celluclast®, bei der Dosierung der Stufe 3 zudem das Enzymgemisch Roxazyme® sich verglichen mit der Amylasezugabe positiv auf den T-Verlust bis max. 4 h Inkubationszeit auswirkten. Ab 8 h Inkubationsdauer erfolgte ein Angleichen der verschiedenen Behandlungen.

Tab. 14: Gegenüberstellung des Effekts von Amylase 7b® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) in den einzelnen Konzentrationsstufen 1 bis 3 auf den T-Verlust (%) der Maissilage aus V1-1 in Abhängigkeit der Inkubationszeit (± SD)

Konz. 1	Behandlung			MSE	P-Wert
	A1	C1	R1		
0 h	50,7 ^b ± 0,40	51,7 ^a ± 0,04	50,5 ^b ± 0,37	0,203	0,008
2 h	46,5 ^b ± 0,71	48,3 ^a ± 0,85	47,0 ^b ± 0,74	0,252	0,003
4 h	49,2 ± 1,39	50,3 ± 0,42	49,5 ± 0,91	0,245	0,183
8 h	52,7 ± 2,14	54,2 ± 1,58	53,0 ± 3,24	0,556	0,572
16 h	63,9 ± 2,40	64,7 ± 1,85	64,9 ± 2,98	0,553	0,761
24 h	70,3 ± 2,18	70,4 ± 3,73	70,9 ± 1,56	0,591	0,909
48 h	78,7 ± 2,78	79,2 ± 1,96	78,0 ± 3,86	0,668	0,778
72 h	81,4 ± 2,80	82,6 ± 1,23	81,5 ± 1,95	0,483	0,550
Konz. 2	A2	C2	R2		
0 h	50,0 ^b ± 0,17	51,2 ^a ± 0,35	50,5 ^b ± 0,40	0,193	0,013
2 h	46,7 ^b ± 0,58	48,2 ^a ± 1,08	47,4 ^{ab} ± 0,95	0,247	0,036
4 h	49,1 ^b ± 0,80	50,3 ^a ± 0,68	49,7 ^{ab} ± 0,78	0,207	0,039
8 h	53,1 ± 3,01	54,7 ± 1,16	53,6 ± 2,85	0,573	0,544
16 h	63,3 ± 3,40	63,0 ± 4,01	66,0 ± 1,33	0,766	0,226
24 h	69,3 ± 3,06	70,6 ± 2,44	70,3 ± 3,50	0,686	0,726
48 h	78,4 ± 1,97	78,9 ± 2,00	78,8 ± 1,54	0,412	0,905
72 h	81,1 ± 2,44	81,6 ± 3,08	82,1 ± 1,30	0,537	0,805
Konz. 3	A3	C3	R3		
0 h	50,6 ^b ± 0,15	52,0 ^a ± 0,19	52,2 ^a ± 0,60	0,273	0,004
2 h	47,0 ^b ± 0,54	49,3 ^a ± 0,63	49,0 ^a ± 0,81	0,291	< 0,001
4 h	49,4 ^b ± 0,47	51,3 ^a ± 0,91	51,2 ^a ± 0,77	0,270	< 0,001
8 h	53,0 ± 3,11	55,3 ± 1,18	55,7 ± 1,97	0,571	0,113
16 h	63,8 ± 3,12	63,3 ± 2,64	65,9 ± 2,10	0,647	0,235
24 h	69,7 ± 4,69	70,0 ± 3,94	69,3 ± 3,89	0,929	0,965
48 h	79,6 ± 0,48	79,4 ± 1,53	78,9 ± 2,60	0,397	0,770
72 h	81,2 ± 3,07	81,9 ± 2,27	82,4 ± 1,14	0,523	0,679

3.1.1.2 Parameter der potentiellen Abbaubarkeit

Einfluss der Enzymkonzentration

In Tabelle 15 wird der Effekt der einzelnen Präparate in Abhängigkeit ihrer Dosierung auf die *in sacco*-Parameter dargestellt. Die **Amylase** zeigte in keiner Dosierung einen Effekt auf die *in sacco*-Parameter. **Celluclast®** führte zu einer signifikanten Erhöhung der schnell abbaubaren bzw. löslichen Fraktion a. So wurde der signifikant höchste Wert bei der Konzentration 3 mit 50,7 % gefolgt von den Dosierungen 1 (50,0 %) und 2 (49,8 %) ermittelt. Im Gegenzug zur Erhöhung der löslichen Fraktion erfolgte eine Minderung der abbaubaren Fraktion b. So wurde der abbaubare Teil b um 2 % bei der hohen Dosierung im Vergleich zur Kontrolle vermindert. Die Behandlungen C1 und C2 zeigten keine signifikante Beeinflussung. Auch durch die Zugabe des Präparates **Roxazyme®** konnte eine Erhöhung des Anteils der Fraktion a erzielt werden. Es zeigte sich hierbei ein deutlicher Konzentrationseffekt. Die signifikant höchste Steigerung von 1,9 % im Vergleich zur Kontrolle wurde bei der Behandlung R3 ermittelt. Zudem konnte bei dieser Konzentrationszugabe eine signifikante Verringerung der lag time um 2,9 h und ein somit schnellerer Abbaubeginn der Silage im Pansen festgestellt werden. Die Konzentrationsstufe R2 nahm mit einer signifikanten Steigerung der schnell abbaubaren Fraktion a von 0,5 % gegenüber der Kontrolle eine Mittelstellung ein.

Tab. 15: Konzentrationseffekte von Amylase® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) auf die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t₀ der Maissilage aus V1-1 in Bezug zur Kontrolle (K) (± SD)

Amylase	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A1	A2	A3		
a (%)	48,6 ± 0,33	48,8 ± 0,59	48,6 ± 0,44	49,0 ± 0,36	0,091	0,381
b (%)	33,6 ± 3,23	33,1 ± 3,08	33,4 ± 2,30	32,8 ± 3,28	0,574	0,967
c (% h ⁻¹)	6,41 ± 2,03	5,89 ± 0,76	5,57 ± 1,16	5,56 ± 1,17	0,268	0,674
d (%)	82,2 ± 3,00	81,9 ± 2,88	81,9 ± 2,15	81,7 ± 3,26	0,544	0,994
t ₀ (h)	6,66 ± 2,96	5,75 ± 1,33	5,51 ± 2,18	5,47 ± 1,49	0,410	0,739
Celluclast	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	C1	C2	C3		
a (%)	48,6 ^c ± 0,33	50,0 ^b ± 0,26	49,8 ^b ± 0,61	50,7 ^a ± 0,40	0,180	< 0,001
b (%)	33,6 ± 3,23	33,9 ± 1,61	33,3 ± 2,66	33,5 ± 0,66	0,434	0,974
c (% h ⁻¹)	6,41 ^a ± 2,03	5,06 ^{ab} ± 1,29	4,92 ^{ab} ± 0,87	4,43 ^b ± 0,99	0,303	0,109
d (%)	82,2 ± 3,00	83,9 ± 1,64	83,1 ± 2,28	84,2 ± 0,48	0,428	0,339
t ₀ (h)	6,66 ± 2,96	5,12 ± 0,94	4,84 ± 1,28	5,14 ± 2,19	0,410	0,408
Roxazyme	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	R1	R2	R3		
a (%)	48,6 ^c ± 0,33	48,8 ^{bc} ± 0,41	49,1 ^b ± 0,18	50,5 ^a ± 0,41	0,174	< 0,001
b (%)	33,6 ± 3,23	34,0 ± 1,11	33,3 ± 1,32	33,6 ± 1,51	0,406	0,950
c (% h ⁻¹)	6,41 ± 2,03	5,83 ± 0,99	6,05 ± 1,54	4,89 ± 0,97	0,318	0,410
d (%)	82,2 ± 3,00	82,7 ± 0,84	82,4 ± 1,26	84,1 ± 1,72	0,414	0,401
t ₀ (h)	6,66 ^a ± 2,96	4,86 ^{ab} ± 1,81	5,28 ^{ab} ± 1,52	3,80 ^b ± 0,70	0,450	0,153

a = lösliche Fraktion, b = unlösliche, abbaubare Fraktion, c = Abbaurrate von b, d = (a + b) = potentiell abbaubare Fraktion, t₀ = lag time = Verzögerungszeit bis Abbaubeginn
Kontrolle (K) wurde nur einmal ermittelt und für den Vergleich der Enzymbehandlungen übernommen

Vergleich der Enzympräparate in Abhängigkeit der Konzentrationsstufen 1 bis 3

Beim Vergleich der Enzymprodukte konnte bei **Konzentrationsstufe 1** durch die Celluclastzulage eine signifikante Erhöhung der Fraktion a um jeweils 1,2 % zu A1 und R1 ermittelt werden. Tabelle 16 zeigt, dass in der nächsthöheren Dosierung (**Stufe 2**) der signifikant niedrigste Wert der Fraktion a bei A2 (48,6 %) gefolgt von den Behandlungen R2 (49,1 %) und C2 (49,8 %) festgestellt wurde. In der **Konzentrationsstufe 3** glichen sich die Behandlungen R3 und C3 in der Fraktion a an und waren zu A3 um etwa 1,6 % signifikant erhöht. Zudem zeigte sich bei R3 eine

numerische Verringerung der lag time um im Mittel 1,5 h zu A3 und C3. Die restlichen *in sacco*-Parameter unterschieden sich nicht signifikant zwischen den einzelnen Enzymbehandlungen.

Tab. 16: Gegenüberstellung des Effekts von Amylase 7b® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) in den einzelnen Konzentrationsstufen 1 bis 3 auf die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t₀ der Maissilage aus V1-1 (± SD)

Konz. 1	Behandlung			MSE	P-Wert
	A1	C1	R1		
a (%)	48,8 ^b ± 0,59	50,0 ^a ± 0,26	48,8 ^b ± 0,41	0,181	< 0,001
b (%)	33,1 ± 3,08	33,9 ± 1,61	34,0 ± 1,11	0,500	0,764
c (% h ⁻¹)	5,89 ± 0,76	5,06 ± 1,29	5,83 ± 0,99	0,254	0,337
d (%)	81,9 ± 2,88	83,9 ± 1,64	82,7 ± 0,84	0,508	0,254
t ₀ (h)	5,75 ± 1,33	5,12 ± 0,94	4,86 ± 1,81	0,325	0,552
Konz. 2	A2	C2	R2		
a (%)	48,6 ^c ± 0,44	49,8 ^a ± 0,61	49,1 ^b ± 0,18	0,155	0,001
b (%)	33,4 ± 2,30	33,3 ± 2,66	33,3 ± 1,32	0,480	0,995
c (% h ⁻¹)	5,57 ± 1,16	4,92 ± 0,87	6,05 ± 1,54	0,293	0,302
d (%)	81,9 ± 2,15	83,1 ± 2,28	82,4 ± 1,26	0,446	0,614
t ₀ (h)	5,51 ± 2,18	4,84 ± 1,28	5,28 ± 1,52	0,383	0,786
Konz. 3	A3	C3	R3		
a (%)	49,0 ^b ± 0,36	50,7 ^a ± 0,40	50,5 ^a ± 0,41	0,218	< 0,001
b (%)	32,8 ± 3,28	33,5 ± 0,66	33,6 ± 1,51	0,498	0,784
c (% h ⁻¹)	5,56 ± 1,17	4,43 ± 0,99	4,89 ± 0,97	0,267	0,210
d (%)	81,7 ± 3,26	84,2 ± 0,48	84,1 ± 1,72	0,572	0,124
t ₀ (h)	5,47 ± 1,49	5,14 ± 2,19	3,80 ± 0,70	0,409	0,243

a = lösliche Fraktion, b = unlösliche, abbaubare Fraktion, c = Abbaurate von b, d = (a + b) = potentiell abbaubare Fraktion, t₀ = lag time = Verzögerungszeit bis Abbaubeginn

Die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit verdeutlichen, dass das Enzympräparat Celluclast® in erster Linie eine Erhöhung der schnell abbaubaren Fraktion a, jedoch bereits ab der niedrigsten Konzentrationsstufe 1, zur Folge hatte. Die Wirkung von Roxazyme® war abhängig von der Konzentration gestaffelt und zeigte sich insbesondere in einer Erhöhung der Fraktion a und in der Verringerung der lag time bei einer hohen Dosierung (R3). Beim Vergleich der Präparate untereinander wird deutlich, dass bis zur Dosierungsstufe 2 das Enzym Celluclast® die höchste Wirkung insbesondere auf die a-Fraktion aufwies und erst bei Konzentrationsstufe 3 ein Angleichen der Behandlung R3 an C3 beobachtet werden konnte.

3.1.1.3 Effektive ruminale Abbaubarkeit

Einfluss der Enzymkonzentration

Tabelle 17 verdeutlicht, dass die **Amylasezugabe** keine Auswirkung auf die effektive T-Abbaubarkeit der Maissilage zur Folge hatte. Durch die Supplementierung von **Celluclast®** hingegen konnten bei Passageraten von 6 und 8 %/ h bereits ab der niedrigsten Dosierungsstufe 1 signifikant höhere Abbaubarkeiten im Vergleich zur Kontrolle ermittelt werden. Im Mittel der drei Konzentrationen wurde eine Steigerung von 2,4 % ($k=0,06$) und 2,3 % ($k=0,08$) in Bezug zur Kontrolle erzielt. Die einzelnen Dosierungsstufen 1-3 unterschieden sich nicht signifikant. Die **Roxazyme-behandlung** R3 zeigte bei Passageraten von 2 und 4 %/ h eine signifikante Steigerung der Abbaubarkeit von 4,3 % bzw. 4,5 % gegenüber K, während R1 und R2 keinen signifikanten Effekt aufwiesen. Bei Annahmen höherer Passageraten ($k=0,06/ 0,08$) erreichte R3 mit Ausnahme zu R1 ($k=0,06$) durchweg die signifikant höchsten effektiven Abbaubarkeiten mit mittleren Steigerungen von etwa 3 % zu den restlichen drei Behandlungen K, R1 und R2. Dies verdeutlicht, dass lediglich bei der hohen Konzentrationsstufe 3, hier aber bereits schon bei einem niedrigem Fütterungsniveau, d.h. bei einer angenommenen Passagerate von 2 %/ h, das Produkt Roxazyme® eine signifikante Verbesserung der effektiven ruminale Abbaubarkeit zur Folge hat. Bei Celluclast® hingegen scheint eine geringere Dosierung (3,39 g/ kg T), jedoch in Verbindung mit einer gewissen Passagerate ($k>0,04$), bereits als ausreichend.

Tab. 17: Konzentrationseffekte von Amylase® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) auf die effektive Abbaubarkeit der Maissilage aus V1-1 in Bezug zur Kontrolle (K) in Abhängigkeit der Passagerate (k) (\pm SD)

Amylase	Behandlung				MSE	P-Wert
	K*	A1	A2	A3		
k=0,02	67,5 \pm 5,15	68,4 \pm 2,23	68,4 \pm 2,29	68,5 \pm 2,10	0,617	0,937
k=0,04	59,1 \pm 3,61	59,9 \pm 1,80	60,0 \pm 2,34	60,1 \pm 1,74	0,481	0,902
k=0,06	56,4 \pm 2,79	57,1 \pm 1,43	57,0 \pm 1,91	57,2 \pm 1,40	0,380	0,882
k=0,08	54,5 \pm 2,24	55,1 \pm 1,18	55,1 \pm 1,61	55,3 \pm 1,16	0,312	0,855
Celluclast	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	C1	C2	C3		
k=0,02	67,5 \pm 5,15	70,5 \pm 1,27	70,2 \pm 1,63	70,6 \pm 1,47	0,611	0,205
k=0,04	59,1 \pm 3,61	61,7 \pm 1,16	61,7 \pm 1,52	61,9 \pm 1,98	0,495	0,132
k=0,06	56,4 ^b \pm 2,79	58,7 ^a \pm 0,98	58,7 ^a \pm 1,21	58,9 ^a \pm 1,72	0,408	0,080
k=0,08	54,5 ^b \pm 2,24	56,7 ^a \pm 0,84	56,6 ^a \pm 0,97	57,0 ^a \pm 1,52	0,350	0,039
Roxazyme	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	R1	R2	R3		
k=0,02	67,5 ^b \pm 5,15	69,5 ^{ab} \pm 1,52	69,0 ^{ab} \pm 2,05	71,8 ^a \pm 0,65	0,684	0,169
k=0,04	59,1 ^b \pm 3,61	61,2 ^{ab} \pm 1,88	60,7 ^{ab} \pm 2,06	63,6 ^a \pm 0,75	0,586	0,046
k=0,06	56,4 ^b \pm 2,79	58,1 ^{ab} \pm 1,58	57,8 ^b \pm 1,77	60,4 ^a \pm 0,77	0,493	0,023
k=0,08	54,5 ^b \pm 2,24	56,1 ^b \pm 1,39	55,9 ^b \pm 1,57	58,3 ^a \pm 0,73	0,432	0,011

*Kontrolle (K) wurde nur einmal ermittelt und für den Vergleich der Enzymbehandlungen übernommen

Vergleich der Enzympräparate in Abhängigkeit der Konzentrationsstufen 1 bis 3

In Tabelle 18 sind die effektiven Abbaubarkeiten im Vergleich der Enzyme innerhalb der jeweiligen Konzentrationsstufe dargestellt. Im Vergleich der **Konzentrationsstufe 1** zeigte sich bei einer Passagerate von 8 %/ h eine signifikante Erhöhung der effektiven Abbaubarkeit der Behandlung C1 zu A1 um 1,6 %. In der Annahme geringerer Passageraten wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen festgestellt. Die numerisch höchsten Abbaubarkeiten konnten jedoch immer bei C1 ermittelt werden. Die **Konzentrationsstufe 2** zeigte keine signifikanten Differenzen zwischen den einzelnen Enzympräparaten, wohingegen bei der Dosierung der **Stufe 3** deutliche Unterschiede zu verzeichnen waren. Bei einer Passagerate von 2 %/ h wurden signifikante Verbesserungen bei C3 und R3 in Bezug zu A3 mit Werten von 2,1 bzw. 3,3 % ermittelt. Bei Passageraten von 4 und 6 %/ h zeigten lediglich die Roxazymebehandlungen signifikant verbesserte Abbau-

barkeiten im Vergleich zu den Amylasebehandlungen um 3,5 % ($k=0,04$) und 3,2 % ($k=0,06$). Wird ein hohes Fütterungsniveau ($k=0,08$) zu Grunde gelegt, konnte ein Angleichen von C3 an R3 berechnet werden, was eine signifikante Erhöhung der Abbaubarkeit um 1,7 % (C3) bzw. 3,0 % (R3) zu A3 zur Folge hatte.

Tab. 18: Gegenüberstellung des Effekts von Amylase 7b® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) in den einzelnen Konzentrationsstufen 1 bis 3 auf die effektive Abbaubarkeit der Maissilage aus V1-1 in Abhängigkeit der Passagerate (k) (\pm SD)

Konz. 1	Behandlung			MSE	P-Wert
	A1	C1	R1		
k=0,02	68,4 \pm 2,23	70,5 \pm 1,27	69,5 \pm 1,52	0,450	0,148
k=0,04	59,9 \pm 1,80	61,7 \pm 1,16	61,2 \pm 1,88	0,417	0,186
k=0,06	57,1 \pm 1,43	58,7 \pm 0,98	58,1 \pm 1,58	0,349	0,141
k=0,08	55,1 ^b \pm 1,18	56,7 ^a \pm 0,84	56,1 ^{ab} \pm 1,39	0,305	0,098
Konz. 2	A2	C2	R2		
k=0,02	68,4 \pm 2,29	70,2 \pm 1,63	69,0 \pm 2,05	0,483	0,290
k=0,04	60,0 \pm 2,34	61,7 \pm 1,52	60,7 \pm 2,06	0,476	0,340
k=0,06	57,0 \pm 1,91	58,7 \pm 1,21	57,8 \pm 1,77	0,401	0,272
k=0,08	55,1 \pm 1,61	56,6 \pm 0,97	55,9 \pm 1,57	0,348	0,204
Konz. 3	A3	C3	R3		
k=0,02	68,5 ^b \pm 2,10	70,6 ^a \pm 1,47	71,8 ^a \pm 0,65	0,493	0,011
k=0,04	60,1 ^b \pm 1,74	61,9 ^{ab} \pm 1,98	63,6 ^a \pm 0,75	0,510	0,011
k=0,06	57,2 ^b \pm 1,40	58,9 ^{ab} \pm 1,72	60,4 ^a \pm 0,77	0,450	0,007
k=0,08	55,3 ^b \pm 1,16	57,0 ^a \pm 1,52	58,3 ^a \pm 0,73	0,408	0,004

Beim Vergleich der unterschiedlichen Konzentrationen innerhalb eines Enzymproduktes wurde für Celluclast® bereits bei der geringsten Dosierung (3,39 g/ kg T) eine signifikante Verbesserung in der effektiven T-Abbaubarkeit bei Maissilage in Bezug zur Kontrolle ermittelt. Jedoch zeigte sich die Notwendigkeit einer gewissen Passagerate ($k \geq 0,06$). Dagegen konnte durch die Zulage von Roxazyme® bereits ab einer Passagerate von 2 %/ h, hier aber nur bei der hohen Zulage von 27,7 g/ kg T, eine signifikante Steigerung in der T-Abbaubarkeit beobachtet werden. Diese spezifischen Wirkungsvoraussetzungen wurden bei der Gegenüberstellung der Enzymprodukte in Abhängigkeit ihrer Konzentrationsstufen 1 bis 3 bestätigt. Somit zeichnete sich bei einem niedrigem Zulageniveau in Verbindung mit hohen Passageraten ein verstärkt positiver Effekt von Celluclast® auf die T-Abbaubarkeit von Maissilage ab. Die hohe Zulage von Roxazyme® scheint jedoch, insbesondere bei niedrigen Passageraten, der Celluclastzulage überlegen zu sein. Amylase 7b® zeigte keine Wirkung auf die effektive ruminale T-Abbaubarkeit von Maissilage.

3.1.1.4 NDF-Verlust

Da in den dargestellten Ergebnissen die höchsten Verbesserungen bei den Behandlungen C3 und R3 zu verzeichnen waren, wurde zusätzlich der Einfluss auf den NDF-Verlust bei den Auswaschverlusten (0 h) und nach 8 h Inkubationsdauer im Vergleich zu K ermittelt (Tab. 19). Es zeigten sich bereits in den **Auswaschverlusten (0 h)** signifikante Erhöhungen um 2,0 % (C3) und 5,3 % (R3) zur Kontrollbehandlung, was auch nach **8 h Inkubation** mit Verbesserungen um 4,4 % (C3) und 5,9 % (R3) ermittelt werden konnte.

Tab. 19: Einfluss der Enzyme Celluclast® und Roxazyme® in der Konzentrationsstufe 3 auf den NDF-Verlust (%) der Maissilage aus Versuch V1-1 bei den Nullvarianten (0 h) und nach 8 h Inkubationsdauer in Bezug zur Kontrolle (\pm SD)

Inkubationsdauer	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	C3	R3		
0 h (n=3)	10,4 ^b \pm 1,29	12,4 ^a \pm 0,35	15,7 ^a \pm 1,07	0,828	0,002
8 h (n=6)	15,4 ^b \pm 3,25	19,8 ^a \pm 2,34	21,3 ^a \pm 4,14	0,956	0,020

Ein Effekt der Enzymzugaben C3 und R3 auf den NDF-Verlust von Maissilage zeigte sich bereits im nicht inkubierten Material (0 h). Die Enzyme müssen daher bereits vor der Verfütterung einen Abbau der Maiszellwandbestandteile bewirkt haben. Nach achtstündiger Panseninkubation wurden zudem signifikant positive Enzymeffekte gegenüber der Kontrolle beobachtet.

3.1.2 Versuch 1-2: Einfluss von Amylase 7b®, Celluclast® und Roxazyme® auf die Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel, Verdaulichkeit der Gesamtration und pansenphysiologische Parameter

Da Futtermittel sich in ihrer chemischen Zusammensetzung unterscheiden und zudem unterschiedliche physikalische Eigenschaften besitzen, wurden in Versuch V1-2 der Versuchsreihe 1 vier Kraftfuttermittel (Gerste, Biertreber, Körnermais und Trockenschnitzel), drei Grundfuttermittel (Maissilage, Grassilage und Heu) und eine Mischration (TMR) mittels *in sacco*-Technik untersucht. Als Enzymbehandlungen kamen in Anlehnung an Versuch V1-1 die Behandlungen A2 (Amylase 7b®, Konzentrationsstufe 2), C2 (Celluclast® 1.5 L, Konzentrationsstufe 2) und R3 (Roxazyme® G2 Liquid, Konzentrationsstufe 3) zum Einsatz. Im Gegensatz zu V1-1 wurden die Enzyme sowohl auf die *in sacco* beprobten Futtermittel als auch auf die verfütterte TMR supplementiert, so dass als zusätzliche Messkriterien die Beeinflussung der Pansenparameter pH-Wert, NH₃-N und FFS und die Verdaulichkeit der Gesamtration durch die Enzyme zur Verfügung stehen konnten. Bei der Kontrollbehandlung (K) wurde an Stelle der Enzyme die gleiche Menge destilliertes Wasser appliziert. In Anlehnung an ein unvollständiges zweifaches 3x3 Lateinischen Quadrat (2 Durchgänge) standen drei Tiere pro Behandlung zur Verfügung.

3.1.2.1 T-Verlust *in sacco*

In den Tabellen 20 bis 23 sind die T-Verluste *in sacco* der beprobten Futtermittel im Vergleich der verschiedenen Behandlungen K, A2, C2 und R3 dargestellt. Die Auswaschverluste (0 h) wurden in dreifacher Wiederholung lediglich bei der Kontrollbehandlung ermittelt.

Kraftfuttermittel Gerste, Biertreber, Körnermais und Trockenschnitzel

Tabelle 20 gibt die T-Verluste von Gerste und Biertreber wieder. Bei Betrachtung der **Gerste** zeigte sich eine signifikante Erhöhung des T-Verlustes bei der Behandlung R3 im Vergleich zu K um 10,0 % nach einer Inkubationszeit von 2 h. Bei **Biertreber** wurden signifikante Verbesserungen um im Mittel 9,3 % (2 h) und 7,7 % (4 h) zu den restlichen drei Behandlungen K, A2 und C2 durch die Zugabe von Roxazyme® bewirkt. Nach 48 h Inkubation betrug die Erhöhung des T-Verlustes zu C2 2,8 %, was signifikant abgesichert werden konnte. Dagegen konnte bei **Körnermais** ein durchweg positiver Effekt der Amylasezugabe A2 in den ersten acht Inkubationszeiten festgestellt werden, wohingegen die Behandlungen C2 und R3 sich nicht signifikant von der Kontrolle unterschieden (Tab. 21). Die Erhöhung betrug im Mittel zu den restlichen Behandlungen nach 2 h Inkubation 7,3 % und nach 4 h 6,5 %, was signifikant abgesichert werden konnte. Zudem konnte eine signifikante Verbesserung um 10,8 % nach 8 h Inkubation in Bezug zur Kontrollbehandlung ermittelt werden. Bei **Trockenschnitzel** (Tab. 21) zeigten die Enzyme keinen Effekt auf den T-Verlust.

Tab. 20: T-Verluste (%) von Gerste und Biertreber des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
Gerste	(0 g/ kg T)	(8,08 g/ kg T)	(6,78 g/ kg T)	(27,7 g/ kg T)		
0* h	23,0 \pm 2,05	23,0 \pm 2,05	23,0 \pm 2,05	23,0 \pm 2,05	0,548	-
2 h	58,8 ^b \pm 4,03	64,9 ^{ab} \pm 4,65	65,2 ^{ab} \pm 2,66	68,8 ^a \pm 2,34	1,395	0,049
4 h	70,6 \pm 4,96	75,1 \pm 1,72	73,3 \pm 5,26	77,4 \pm 2,76	1,230	0,271
8 h	79,9 \pm 4,95	81,5 \pm 1,35	84,4 \pm 2,35	82,5 \pm 0,89	0,859	0,336
16 h	86,9 \pm 2,19	87,3 \pm 1,94	88,4 \pm 1,59	88,5 \pm 1,13	0,482	0,610
24 h	89,4 \pm 1,72	89,4 \pm 0,17	89,9 \pm 1,25	89,6 \pm 0,76	0,286	0,934
48 h	90,6 \pm 0,65	91,1 \pm 0,81	91,5 \pm 0,96	91,5 \pm 0,31	0,208	0,453
72 h	92,1 \pm 0,71	92,2 \pm 0,17	91,9 \pm 0,31	91,8 \pm 0,50	0,125	0,717
Biertreber	K	A2	C2	R3		
0 h	32,7 \pm 3,18	32,7 \pm 3,18	32,7 \pm 3,18	32,7 \pm 3,18	0,850	-
2 h	34,2 ^b \pm 1,02	33,6 ^b \pm 2,08	37,5 ^b \pm 2,87	44,4 ^a \pm 3,41	1,430	0,003
4 h	39,8 ^b \pm 2,66	39,3 ^b \pm 3,29	40,9 ^b \pm 3,90	47,7 ^a \pm 1,30	1,251	0,027
8 h	50,3 \pm 1,80	46,8 \pm 6,09	46,2 \pm 6,41	53,9 \pm 0,87	1,453	0,214
16 h	60,6 \pm 2,40	52,7 \pm 9,84	57,7 \pm 7,03	61,1 \pm 1,55	1,829	0,388
24 h	62,7 \pm 7,61	65,6 \pm 2,40	64,6 \pm 3,30	65,0 \pm 2,63	1,156	0,879
48 h	72,2 ^{ab} \pm 1,15	72,2 ^{ab} \pm 1,38	70,3 ^b \pm 2,00	73,1 ^a \pm 0,23	0,458	0,144
72 h	75,8 \pm 0,58	75,1 \pm 1,60	75,3 \pm 1,80	77,4 \pm 0,99	0,429	0,209

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Tab. 21: T-Verluste (%) von Körnermais und Trockenschnitzel des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

Körnermais	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
0* h	18,0 \pm 3,39	18,0 \pm 3,39	18,0 \pm 3,39	18,0 \pm 3,39	0,907	-
2 h	25,2 ^b \pm 0,90	33,9 ^a \pm 1,12	27,2 ^b \pm 0,59	27,3 ^b \pm 1,75	1,026	< 0,001
4 h	28,5 ^b \pm 3,97	35,9 ^a \pm 0,46	28,7 ^b \pm 1,05	30,9 ^b \pm 1,51	1,050	0,011
8 h	32,7 ^b \pm 3,23	43,5 ^a \pm 2,62	38,0 ^{ab} \pm 4,37	37,5 ^{ab} \pm 3,26	1,432	0,030
16 h	46,9 \pm 8,70	52,7 \pm 0,15	48,8 \pm 7,05	49,7 \pm 5,23	1,648	0,715
24 h	62,3 \pm 10,0	61,5 \pm 3,86	60,0 \pm 8,88	60,2 \pm 8,16	2,009	0,981
48 h	89,4 \pm 4,65	90,0 \pm 5,83	85,7 \pm 9,51	87,5 \pm 1,75	1,588	0,817
72 h	97,5 \pm 1,19	97,8 \pm 1,05	97,7 \pm 1,08	98,1 \pm 0,38	0,250	0,900

Trockenschnitzel	K	A2	C2	R3	MSE	P-Wert
0 h	30,1 \pm 1,77	30,1 \pm 1,77	30,1 \pm 1,77	30,1 \pm 1,77	0,472	-
2 h	33,0 \pm 1,23	33,9 \pm 0,64	34,2 \pm 0,81	33,7 \pm 1,30	0,289	0,549
4 h	39,3 \pm 1,99	40,1 \pm 2,65	40,2 \pm 3,53	40,5 \pm 1,55	0,639	0,950
8 h	53,2 \pm 9,76	53,1 \pm 1,57	54,2 \pm 10,7	53,8 \pm 2,85	1,833	0,998
16 h	82,1 \pm 10,4	76,1 \pm 1,23	82,7 \pm 6,73	79,5 \pm 14,6	2,488	0,830
24 h	87,7 \pm 11,4	90,1 \pm 2,66	91,1 \pm 4,20	90,1 \pm 7,34	1,818	0,945
48 h	95,9 \pm 0,23	95,6 \pm 0,92	95,0 \pm 1,77	96,5 \pm 0,74	0,307	0,458
72 h	96,2 \pm 0,25	95,9 \pm 0,56	96,1 \pm 0,27	95,6 \pm 0,50	0,125	0,336

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage, Heu und TMR

Tabelle 22 stellt dar, dass der beste Effekt bei **Maissilage** durch die Behandlung R3 erzielt wurde. Nach zweistündiger Inkubationsdauer zeigte sich eine signifikante Erhöhung im T-Verlust um 3,8 % im Vergleich zu K. Nach 16 bzw. 24 h Inkubation wurden signifikante Erhöhungen um im Mittel 7,3 bzw. 5,0 % bei R3 zu A2 und C2 ermittelt. Dieser Anstieg konnte jedoch zur Kontrolle nicht signifikant abgesichert werden. Die verschiedenen Behandlungen zeigten keine signifikanten Effekte auf den T-Verlust bei **Grassilage** (Tab. 22), **Heu** und der inkubierten **TMR** (Tab. 23).

Tab. 22: T-Verluste (%) von Maissilage und Grassilage des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

Maissilage	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
0* h	51,9 \pm 0,57	51,9 \pm 0,57	51,9 \pm 0,57	51,9 \pm 0,57	0,151	-
2 h	49,3 ^b \pm 2,43	50,9 ^{ab} \pm 1,74	51,3 ^{ab} \pm 1,05	53,1 ^a \pm 1,21	0,584	0,130
4 h	50,3 \pm 2,23	52,0 \pm 1,33	52,1 \pm 2,16	52,4 \pm 4,30	0,717	0,783
8 h	54,3 \pm 2,20	54,8 \pm 0,95	55,8 \pm 4,10	60,3 \pm 5,81	1,167	0,267
16 h	63,4 ^{ab} \pm 1,96	60,7 ^b \pm 4,98	60,9 ^b \pm 2,38	68,1 ^a \pm 0,27	1,156	0,047
24 h	68,7 ^{ab} \pm 1,08	67,8 ^b \pm 2,35	67,1 ^b \pm 1,73	72,4 ^a \pm 3,34	0,837	0,081
48 h	77,3 \pm 1,72	80,1 \pm 1,53	78,2 \pm 0,66	79,2 \pm 1,95	0,495	0,216
72 h	81,4 \pm 1,07	81,6 \pm 1,83	81,7 \pm 1,12	83,0 \pm 1,50	0,399	0,509
Grassilage	K	A2	C2	R3		
0 h	46,0 \pm 1,98	46,0 \pm 1,98	46,0 \pm 1,98	46,0 \pm 1,98	0,529	-
2 h	45,9 \pm 1,50	46,9 \pm 0,90	47,4 \pm 2,58	48,3 \pm 1,37	0,494	0,427
4 h	50,5 \pm 1,94	50,9 \pm 1,10	51,7 \pm 3,99	52,0 \pm 0,95	0,604	0,838
8 h	56,2 \pm 0,99	60,1 \pm 4,14	58,2 \pm 4,15	62,9 \pm 5,07	1,212	0,270
16 h	70,4 \pm 0,59	70,4 \pm 2,43	73,3 \pm 1,05	73,9 \pm 2,46	0,667	0,085
24 h	79,0 \pm 2,10	79,3 \pm 2,00	79,3 \pm 3,66	78,6 \pm 5,11	0,856	0,994
48 h	86,0 \pm 1,78	86,0 \pm 1,13	83,9 \pm 0,68	86,1 \pm 0,91	0,402	0,152
72 h	87,2 \pm 0,70	87,2 \pm 0,75	87,4 \pm 1,11	88,1 \pm 1,15	0,260	0,618

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Tab. 23: T-Verluste (%) von Heu und TMR des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

Heu	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
0* h	21,4 \pm 0,71	21,4 \pm 0,71	21,4 \pm 0,71	21,4 \pm 0,71	0,189	-
2 h	24,2 \pm 0,89	24,2 \pm 1,70	24,5 \pm 1,61	26,4 \pm 1,31	0,442	0,254
4 h	28,0 \pm 1,96	27,4 \pm 2,21	27,0 \pm 2,47	28,8 \pm 1,13	0,533	0,730
8 h	35,6 \pm 4,95	36,6 \pm 1,57	38,9 \pm 4,82	40,6 \pm 4,37	1,180	0,498
16 h	53,4 \pm 5,73	55,5 \pm 4,91	53,6 \pm 6,58	56,2 \pm 2,46	1,321	0,877
24 h	68,4 \pm 2,29	63,5 \pm 4,39	64,5 \pm 6,85	68,0 \pm 4,12	1,321	0,522
48 h	75,3 \pm 0,49	76,2 \pm 1,11	75,3 \pm 3,79	76,0 \pm 1,51	0,537	0,932
72 h	80,5 \pm 0,75	79,7 \pm 1,92	80,3 \pm 2,20	80,5 \pm 1,53	0,427	0,925

TMR	K	A2	C2	R3	MSE	P-Wert
0 h	51,3 \pm 5,66	51,3 \pm 5,66	51,3 \pm 5,66	51,3 \pm 5,66	1,512	-
2 h	52,6 \pm 4,10	54,5 \pm 2,15	53,9 \pm 2,63	52,6 \pm 1,82	0,737	0,789
4 h	54,5 \pm 4,19	56,3 \pm 2,14	56,1 \pm 1,88	54,9 \pm 2,41	0,725	0,839
8 h	61,1 \pm 4,35	58,4 \pm 2,75	61,8 \pm 2,08	61,7 \pm 3,17	0,888	0,560
16 h	72,6 \pm 1,26	66,1 \pm 5,41	67,8 \pm 5,23	69,4 \pm 1,96	1,213	0,286
24 h	74,0 \pm 7,13	76,7 \pm 1,31	76,7 \pm 6,79	75,0 \pm 5,22	1,423	0,918
48 h	87,0 \pm 1,14	84,5 \pm 4,31	85,3 \pm 2,22	87,5 \pm 0,47	0,720	0,452
72 h	89,0 \pm 1,06	88,7 \pm 1,17	88,5 \pm 0,83	89,0 \pm 0,76	0,246	0,916

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Die Enzyme zeigten – sofern Effekte auftraten – bis max. 8 h Inkubationsdauer signifikant positive Effekte auf den T-Verlust *in sacco*. Bei Gerste, Biertreber und Maissilage konnten lediglich bei der Roxazymebehandlung R3, bei Körnermais nur bei der Amylasebehandlung A2 signifikante Verbesserungen ermittelt werden. Die Celluclastzugabe (C2) bewirkte dagegen nur tendenzielle Erhöhungen im T-Verlust in Bezug zur Kontrolle. Trockenschnitzel, Heu und Grassilage wurden im T-Verlust nicht signifikant beeinflusst.

3.1.2.2 Parameter der potentiellen Abbaubarkeit

Krafftuttermittel Gerste, Biertreber, Körnermais und Trockenschnitzel

In Tabelle 24 sind die einzelnen Parameter (a , b , c , d und t_0) für die Krafftuttermittel Gerste, Biertreber, Körnermais und Trockenschnitzel im Vergleich der verschiedenen Behandlungen K, A2, C2 und R3 dargestellt. Bei **Gerste** konnte durch die Roxazymezugabe eine signifikante Erhöhung der Abbaurate c von 33,0 %/h (K) auf 52,1 %/h (R3) ermittelt werden. Die Zulage A2 und C2 führte mit einem Mittelwert von 42,3 %/h zu keiner signifikanten Beeinflussung. Die restlichen Parameter mit Werten von im Mittel 24,0 % (a), 65,2 % (b) und 89,2 % (d) unterschieden sich nicht zwischen den Behandlungen. Die lag time (t_0) lag bei 0 h, was einem sofortigen Beginn des mikrobiellen Abbaus der Gerste bei Inkubationsstart gleichzusetzen ist. Weiterhin sind in Tabelle 24 die *in sacco*-Parameter von **Biertreber** aufgeführt. Es wird deutlich, dass eine signifikante Verminderung von t_0 um 1,6 h (C2) bzw. 2,2 h (R3) zu A2 ermittelt werden konnte. Die Kontrollbehandlung wies eine lag time von 0,96 h auf. Andere Parameter wurden nicht beeinflusst. Das Enzym Amylase 7b® bewirkte bei **Körnermais** im Vergleich zur Celluclastbehandlung C2 eine signifikante Verminderung der Fraktion b um 6,0 % von 81,6 % (C2) auf 75,6 % (A2). Dagegen zeigten die *in sacco*-Parameter bei **Trockenschnitzel** keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 24: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Gerste, Birtreber, Körnermais und Trockenschnitzel des Versuches V1-2 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD)

Gerste	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
a (%)	23,9 \pm 2,70	24,3 \pm 2,02	24,5 \pm 1,27	23,1 \pm 1,37	0,501	0,815
b (%)	65,4 \pm 2,81	64,5 \pm 2,60	65,2 \pm 0,58	65,7 \pm 1,31	0,520	0,903
c (% h ⁻¹)	33,0 ^b \pm 8,07	43,5 ^{ab} \pm 6,44	41,1 ^{ab} \pm 5,36	52,1 ^a \pm 3,38	2,542	0,029
d (%)	89,3 \pm 1,10	88,8 \pm 0,66	89,7 \pm 0,97	88,8 \pm 0,18	0,226	0,539
t_0 (h)	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-
Birtreber	K	A2	C2	R3		
a (%)	32,1 \pm 1,78	33,6 \pm 2,75	33,7 \pm 2,84	36,3 \pm 3,10	0,796	0,352
b (%)	42,7 \pm 1,72	43,2 \pm 2,41	41,8 \pm 3,49	39,4 \pm 3,10	0,808	0,406
c (% h ⁻¹)	6,81 \pm 1,10	5,81 \pm 2,33	5,65 \pm 1,59	6,67 \pm 0,95	0,420	0,746
d (%)	74,8 \pm 0,78	76,8 \pm 2,36	75,5 \pm 0,77	75,7 \pm 0,86	0,400	0,406
t_0 (h)	0,96 ^{ab} \pm 1,25	2,24 ^a \pm 0,88	0,61 ^b \pm 0,65	0,00 ^b \pm 0,00	0,320	0,055
Körnermais	K	A2	C2	R3		
a (%)	20,2 \pm 4,55	20,8 \pm 4,78	18,4 \pm 1,88	19,6 \pm 1,87	0,916	0,857
b (%)	79,8 ^{ab} \pm 4,55	75,6 ^b \pm 1,73	81,6 ^a \pm 1,88	80,4 ^{ab} \pm 1,87	0,964	0,119
c (% h ⁻¹)	3,72 \pm 0,20	4,47 \pm 1,90	3,42 \pm 0,87	3,37 \pm 0,11	0,290	0,580
d (%)	100 \pm 0,00	96,4 \pm 6,28	100 \pm 0,00	100 \pm 0,00	0,906	0,441
t_0 (h)	2,70 \pm 3,10	0,00 \pm 0,00	0,13 \pm 0,23	0,14 \pm 0,24	0,513	0,178
Trockenschnitzel	K	A2	C2	R3		
a (%)	31,7 \pm 1,33	30,0 \pm 1,99	30,5 \pm 2,87	31,5 \pm 2,35	0,587	0,731
b (%)	65,6 \pm 2,28	67,5 \pm 2,02	66,1 \pm 4,45	65,8 \pm 1,35	0,720	0,834
c (% h ⁻¹)	10,6 \pm 4,79	8,29 \pm 0,35	11,4 \pm 0,97	9,58 \pm 2,15	0,744	0,553
d (%)	97,3 \pm 1,10	97,4 \pm 0,62	96,5 \pm 1,77	97,3 \pm 1,14	0,321	0,785
t_0 (h)	2,87 \pm 0,44	2,01 \pm 1,08	3,34 \pm 3,06	2,69 \pm 0,86	0,441	0,813

a = lösliche Fraktion, b = unlösliche, abbaubare Fraktion, c = Abbaurrate von b, d = (a + b) = potentiell abbaubare Fraktion, t_0 = lag time = Verzögerungszeit bis Abbaubeginn

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage, Heu und TMR

Tabelle 25 gibt die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit bei Maissilage, Grassilage, Heu und der TMR wieder. Bei Betrachtung der *in sacco*-Parameter von **Maissilage** zeigte Roxazyme® eine signifikante Wirkung auf die Abbaurate *c* im Vergleich zu A2 und C2 mit einer Steigerung um im Mittel 2,5 %/ h. Ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle wurde nicht ermittelt. Die Parameter *a*, *b* und lag time unterschieden sich nicht signifikant. In Tabelle 25 sind zudem die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit von **Grassilage** dargestellt. Die Fraktion *b* zeigte einen signifikant niedrigeren Wert mit 40,1 % bei der Behandlung C2 im Vergleich zur Kontrolle (42,6 %). Die Zulage von Roxazyme® äußerte sich in einer Verringerung der lag time um 1,4 h gegenüber K. Die weiteren Parameter zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungen. Die *in sacco*-Parameter bei **Heu** und **TMR** wurden durch die Enzymzulagen nicht signifikant beeinflusst.

Tab. 25: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t₀ von Maissilage, Grassilage, Heu und TMR des Versuches V1-2 in Abhängigkeit der Enzymzulage (± SD)

Maissilage	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
a (%)	50,6 ± 1,32	51,3 ± 0,66	51,7 ± 0,70	52,3 ± 0,70	0,284	0,219
b (%)	31,7 ± 1,04	34,9 ± 3,49	33,5 ± 2,21	30,5 ± 3,95	0,876	0,329
c (% h ⁻¹)	4,71 ^{ab} ± 0,70	3,55 ^b ± 0,60	3,68 ^b ± 0,84	6,16 ^a ± 2,20	0,443	0,113
d (%)	82,3 ± 2,36	86,2 ± 2,88	85,2 ± 1,71	82,8 ± 4,22	0,871	0,373
t ₀ (h)	5,49 ± 1,36	5,45 ± 2,44	6,11 ± 4,69	3,40 ± 1,48	0,762	0,678
Grassilage	K	A2	C2	R3		
a (%)	45,6 ± 1,66	46,4 ± 1,54	46,6 ± 1,87	45,5 ± 1,62	0,437	0,805
b (%)	42,6 ^a ± 0,99	41,5 ^{ab} ± 1,52	40,1 ^b ± 0,55	42,4 ^{ab} ± 1,33	0,410	0,105
c (% h ⁻¹)	6,53 ± 0,72	6,76 ± 0,95	7,47 ± 0,49	7,14 ± 0,55	0,204	0,415
d (%)	88,2 ± 1,55	87,9 ± 0,95	86,8 ± 1,37	87,9 ± 0,28	0,328	0,472
t ₀ (h)	2,53 ^a ± 0,54	2,14 ^{ab} ± 0,63	2,45 ^a ± 0,73	1,16 ^b ± 0,37	0,218	0,068
Heu	K	A2	C2	R3		
a (%)	22,0 ± 0,17	21,3 ± 0,66	21,4 ± 0,81	21,6 ± 0,58	0,171	0,507
b (%)	59,4 ± 0,63	59,9 ± 1,01	60,1 ± 3,07	59,4 ± 1,29	0,446	0,933
c (% h ⁻¹)	5,90 ± 0,89	5,56 ± 0,80	5,53 ± 1,34	5,98 ± 0,19	0,230	0,899
d (%)	81,4 ± 0,75	81,2 ± 1,56	81,5 ± 2,35	81,0 ± 1,68	0,418	0,983
t ₀ (h)	2,41 ± 1,19	1,85 ± 0,87	1,81 ± 1,19	1,18 ± 0,38	0,272	0,521
TMR	K	A2	C2	R3		
a (%)	52,7 ± 4,38	50,8 ± 3,94	50,1 ± 4,48	52,1 ± 4,16	1,088	0,876
b (%)	39,6 ± 3,86	42,2 ± 3,63	43,1 ± 1,44	39,8 ± 4,40	0,977	0,563
c (% h ⁻¹)	4,64 ± 1,93	3,48 ± 0,65	4,37 ± 2,26	4,22 ± 0,40	0,400	0,814
d (%)	92,3 ± 3,24	93,0 ± 1,57	93,2 ± 5,89	91,9 ± 0,25	0,866	0,961
t ₀ (h)	2,54 ± 0,94	0,56 ± 0,97	0,79 ± 0,98	2,21 ± 2,18	0,426	0,268

Die Wirkung der Enzyme auf die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit äußerte sich in besonderer Weise durch eine Beeinflussung der abbaubaren Fraktion b, der Abbaurate c und der lag time. Dabei zeigten sich signifikante Erhöhungen der Abbaurate c bei Gerste und Maissilage durch die Roxazymezulage. Die Fraktion b war bei Grassilage durch die Celluclastzulage signifikant niedriger in Bezug zur Kontrolle, wohingegen die lag time bei der Behandlung R3 den signifikant geringsten Wert aufwies. Eine Verringerung der lag time in Abhängigkeit der Behandlung konnte auch bei Biertreber und Körnermais beobachtet werden. Dabei führte bei Biertreber die Zulage der NSP-spaltenden Enzyme zu signifikant geringeren Werten im Vergleich zur Amylasezulage; bei Körnermais kann von einer tendenziellen Verringerung der lag time durch die Enzyme in Bezug zur Kontrollbehandlung ausgegangen werden. Die *in sacco*-Parameter von Trockenschnitzel, Heu und TMR unterschieden sich nicht signifikant zwischen den einzelnen Behandlungen.

3.1.2.3 Effektive ruminale Abbaubarkeit

Kraftfuttermittel Gerste, Biertreber, Körnermais und Trockenschnitzel

In Tabelle 26 sind die effektiven T-Abbaubarkeiten der Kraftfuttermittel bei den unterschiedlichen Enzymzulagen dargestellt. Bei Betrachtung der effektiven Abbaubarkeiten von **Gerste** zeigte sich ein Effekt der Behandlung R3 in einem deutlichen Zusammenhang mit der Passagerate. Bei Passageraten von 2 bzw. 4 %/h mit mittleren Werten von 86,1 bzw. 83,3 % konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungen ermittelt werden. Erst bei einem höheren Fütterungsniveau ($k=0,06$, $k=0,08$) konnte eine signifikante Erhöhung der effektiven Abbaubarkeit bei R3 in Bezug zu K mit Steigerungen von 3,1 % ($k=0,06$) und 3,9 % ($k=0,08$) berechnet werden. Die Behandlungen A2 und C2 zeigten mit Werten von im Mittel 81,1 % ($k=0,06$) und 78,8 % ($k=0,08$) keine signifikante Beeinflussung. Bei **Biertreber** hingegen zeigte die Roxazymebehandlung R3 schon ab einer Passagerate von 2 %/h signifikant höhere effektive Abbauraten. Die Steigerungen betragen in Bezug zum Mittelwert der Behandlungen K, A2 und C2 3,4 % ($k=0,02$), 5,4 % ($k=0,04$) und 5,9 % ($k=0,08$). Bei einer Passagerate von 6 %/h konnte ein signifikanter Effekt von R3 lediglich zur Behandlung A2 festgestellt werden. Die effektive Abbaubarkeit wurde bei **Körnermais** bei

Passageraten von 6 und 8 %/ h durch die Amylasezulage in Bezug zur Kontrolle signifikant positiv beeinflusst. Es ergaben sich Erhöhungen von 44,6 % (K) auf 52,0 % (A2) ($k=0,06$) und von 39,6 % (K) auf 47,1 % (A2) ($k=0,08$). Die Behandlungen C2 und R3 zeigten mit Werten von im Mittel 47,9 % ($k=0,06$) und 42,8 % ($k=0,08$) keine signifikante Beeinflussung. In der Annahme niedrigerer Passageraten konnten numerische Unterschiede zwischen den Behandlungen ermittelt werden. Bei **Trockenschnitzel** ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungen.

Tab. 26: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Gerste, Biertreber, Körnermais und Trockenschnitzel des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD)

Gerste	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
k=0,02	85,4 \pm 1,08	85,9 \pm 0,30	86,6 \pm 1,36	86,4 \pm 0,05	0,260	0,385
k=0,04	82,0 \pm 1,47	83,3 \pm 0,31	83,9 \pm 1,69	84,1 \pm 0,07	0,375	0,167
k=0,06	78,9 ^b \pm 1,86	80,9 ^{ab} \pm 0,57	81,3 ^{ab} \pm 1,96	82,0 ^a \pm 0,17	0,487	0,108
k=0,08	76,2 ^b \pm 2,18	78,7 ^{ab} \pm 0,83	79,0 ^{ab} \pm 2,18	80,1 ^a \pm 0,25	0,583	0,085
Biertreber	K	A2	C2	R3		
k=0,02	63,3 ^b \pm 1,00	62,6 ^b \pm 1,15	63,3 ^b \pm 2,55	66,5 ^a \pm 0,22	0,589	0,046
k=0,04	56,2 ^b \pm 1,50	53,7 ^b \pm 2,70	56,2 ^b \pm 3,64	60,9 ^a \pm 0,11	0,975	0,036
k=0,06	52,0 ^{ab} \pm 1,25	49,6 ^b \pm 2,92	52,1 ^{ab} \pm 4,00	57,0 ^a \pm 0,38	1,024	0,042
k=0,08	49,0 ^b \pm 1,06	46,8 ^b \pm 2,88	49,2 ^b \pm 4,12	54,2 ^a \pm 0,61	1,035	0,042
Körnermais	K	A2	C2	R3		
k=0,02	69,8 \pm 2,25	71,7 \pm 0,83	69,4 \pm 4,12	70,0 \pm 1,24	0,662	0,690
k=0,04	52,2 \pm 5,41	59,5 \pm 1,94	55,4 \pm 4,47	56,0 \pm 1,59	1,203	0,205
k=0,06	44,6 ^b \pm 4,89	52,0 ^a \pm 2,05	47,5 ^{ab} \pm 3,95	48,2 ^{ab} \pm 1,70	1,164	0,139
k=0,08	39,6 ^b \pm 4,49	47,1 ^a \pm 1,82	42,4 ^{ab} \pm 3,40	43,1 ^{ab} \pm 1,75	1,106	0,097
Trockenschnitzel	K	A2	C2	R3		
k=0,02	74,0 \pm 4,16	77,9 \pm 2,65	72,5 \pm 11,4	75,8 \pm 2,48	1,677	0,751
k=0,04	62,0 \pm 2,26	65,7 \pm 3,55	61,8 \pm 11,4	63,7 \pm 2,79	1,608	0,857
k=0,06	56,7 \pm 1,32	59,6 \pm 3,15	56,9 \pm 9,99	58,1 \pm 2,54	1,382	0,905
k=0,08	52,6 \pm 0,98	55,0 \pm 2,82	53,0 \pm 8,81	53,9 \pm 2,31	1,210	0,933

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage, Heu und TMR

Tabelle 27 verdeutlicht die effektiven Abbaubarkeiten bei den Grundfuttermitteln und der beprobten TMR. Durch die Zulage von Roxazyme® konnten bei den hohen Passageraten von 6 und 8 %/ h die signifikant höchsten effektiven Abbaubarkeiten von **Maissilage** mit Steigerungen von je 3,6 % zu K ermittelt werden. Die Behandlungen A2 und C2 erreichten effektive Abbaubarkeiten von im Mittel 59,0 % (k=0,06) bzw. 57,1 % (k=0,08). In der Annahme geringerer Fütterungsniveaus (k=0,02 und k=0,04) zeigte sich kein signifikanter Behandlungseffekt. Auch bei **Grassilage** konnten durch die Zulage von Roxazyme® signifikante Verbesserungen der effektiven Abbaubarkeiten jeweils um etwa 3,5 % bei Passageraten von 4, 6 und 8 %/ h in Bezug zur Kontrolle ermittelt werden. Die Behandlungen A2 und C2 waren nicht signifikant beeinflusst. **Heu** und **TMR** wurden durch keine Enzymzulage im ruminalen Abbau verbessert.

Tab. 27: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Maissilage, Grassilage, Heu und TMR des Versuches V1-2 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD)

Maissilage	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
k=0,02	69,8 \pm 1,70	71,6 \pm 1,56	70,7 \pm 2,18	71,5 \pm 2,89	0,576	0,692
k=0,04	61,3 \pm 1,31	62,2 \pm 2,07	61,8 \pm 3,00	64,8 \pm 2,17	0,684	0,283
k=0,06	58,4 ^b \pm 1,16	59,1 ^{ab} \pm 1,69	58,9 ^{ab} \pm 2,38	62,0 ^a \pm 1,60	0,609	0,127
k=0,08	56,5 ^b \pm 1,10	57,1 ^b \pm 1,43	57,1 ^b \pm 1,95	60,1 ^a \pm 1,31	0,556	0,068
Grassilage	K	A2	C2	R3	MSE	P-Wert
k=0,02	74,6 \pm 1,31	75,3 \pm 1,22	74,3 \pm 2,02	76,7 \pm 0,92		
k=0,04	65,8 ^b \pm 1,05	67,0 ^{ab} \pm 1,22	66,4 ^{ab} \pm 2,36	69,3 ^a \pm 1,40	0,565	0,102
k=0,06	61,7 ^b \pm 0,93	63,0 ^{ab} \pm 1,09	62,7 ^{ab} \pm 2,27	65,3 ^a \pm 1,47	0,544	0,103
k=0,08	58,8 ^b \pm 0,91	60,1 ^{ab} \pm 1,07	59,9 ^{ab} \pm 2,22	62,3 ^a \pm 1,54	0,531	0,118
Heu	K	A2	C2	R3	MSE	P-Wert
k=0,02	62,4 \pm 1,65	62,6 \pm 1,31	62,7 \pm 3,30	64,0 \pm 1,26		
k=0,04	50,0 \pm 3,36	50,6 \pm 2,56	50,8 \pm 4,53	53,2 \pm 1,02	0,857	0,628
k=0,06	44,2 \pm 3,35	44,7 \pm 2,58	44,9 \pm 4,25	47,3 \pm 0,90	0,828	0,620
k=0,08	40,2 \pm 3,22	40,5 \pm 2,47	40,8 \pm 3,92	43,1 \pm 0,81	0,783	0,606
TMR	K	A2	C2	R3	MSE	P-Wert
k=0,02	77,3 \pm 1,62	77,1 \pm 2,37	77,8 \pm 1,13	77,8 \pm 1,27		
k=0,04	68,7 \pm 2,70	69,4 \pm 2,25	70,4 \pm 2,31	69,4 \pm 1,84	0,592	0,849
k=0,06	65,0 \pm 2,98	65,3 \pm 2,48	66,4 \pm 1,89	65,5 \pm 1,84	0,596	0,904
k=0,08	62,5 \pm 3,23	62,7 \pm 2,57	63,7 \pm 1,36	62,9 \pm 1,88	0,598	0,933

Bei Betrachtung der effektiven Abbaubarkeiten zeigte sich eine Verstärkung der Enzymwirkung insbesondere durch eine Erhöhung der Passagerate (k). So wurden bei Gerste, Körnermais und Maissilage erst ab einer Passagerate von 6 %/ h signifikante Erhöhungen durch die Enzymzulage festgestellt. Bei Biertreber hingegen wurde bereits bei der niedrigsten angenommenen Passagerate ($k=0,02$), bei Grassilage ab einer Passagerate von 4 %/ h ein signifikant positiver Effekt durch die Roxazymezufuhr ermittelt. Unter diesen Umständen wurden bei diesen Futtermitteln, mit Ausnahme des Körnermaises, die signifikant höchsten effektiven Abbaubarkeiten bei der Behandlung R3 berechnet, welche sich jedoch nicht immer signifikant von der Celluclastbehandlung unterscheiden ließen. Bei Körnermais hingegen zeigte lediglich die Amylasezugabe einen signifikant positiven Effekt in Bezug zur Kontrolle. Trockenschnitzel, Heu und TMR unterschieden sich nicht signifikant zwischen den einzelnen Behandlungen.

3.1.2.4 NDF-Verlust

Zur näheren Charakterisierung des Wirkungsortes der Enzyme wurde bei den fibrolytischen Enzymbehandlungen C2 und R3 der NDF-Verlust nach 4 h (bei den Kraftfuttermitteln) bzw. 8 h (bei den Grundfuttermitteln und TMR) Inkubationszeit in Bezug zur Kontrollbehandlung ermittelt (Tab. 28). Nach 4 h Inkubationsdauer wurde bei **Biertreber** in Folge der Roxazymezulage R3 der signifikant höchste NDF-Verlust in Bezug zu K (20,8 %) und C2 (20,1 %) mit einem Wert von 30,3 % ermittelt. Die restlichen Kraftfuttermittel unterschieden sich mit durchschnittlichen Werten von 22,0 % (**Gerste**), 16,6 % (**Körnermais**) und 20,5 % (**Trockenschnitzel**) nicht signifikant zwischen den einzelnen Behandlungen. Numerisch konnte jedoch bei Gerste eine Erhöhung um 6,4 % durch die Roxazymebehandlung im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden. Nach 8 h Inkubationsdauer zeigten sich bei **Grassilage** die signifikant höchsten Verluste bei den Enzymbehandlungen C2 und R3 mit Werten von 25,5 und 33,7 %. Dies ergab Steigerungen zur Kontrolle von 12,7 % (C2) und 20,9 % (R3). Numerische Unterschiede wurden bei **Maissilage** und **Heu** ermittelt, welche aber auf Grund der hohen Standardabweichungen nicht statistisch abzusichern waren. Die mittleren NDF-Verluste nach 8 h Inkubation betragen für Maissilage 18,5 %, für Heu 19,6 % und für die **TMR** 36,6 %.

Tab. 28: NDF-Verluste (%) der in V1-2 untersuchten Futtermittel nach 4 h (Gerste, Biertreber, Körnermais, Trockenschnitzel) bzw. 8 h (Maissilage, Grassilage, Heu, TMR) Inkubationszeit bei den Behandlungen K, C2 und R3 (\pm SD)

	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	C2	R3		
<u>Krafftuttermittel (4 h Inkubationsdauer)</u>					
Gerste	18,4 \pm 1,95	22,8 \pm 7,12	24,8 \pm 4,78	1,739	0,359
Biertreber	20,8 ^b \pm 3,87	20,1 ^b \pm 6,30	30,3 ^a \pm 1,49	2,079	0,049
Körnermais	17,7 \pm 5,84	16,4 \pm 5,58	15,6 \pm 0,42	1,380	0,861
Trockenschnitzel	18,7 \pm 3,13	20,7 \pm 3,91	21,9 \pm 2,39	1,040	0,493
<u>Grundfuttermittel und TMR (8 h Inkubationsdauer)</u>					
Maissilage	15,7 \pm 4,29	16,9 \pm 4,74	22,9 \pm 4,58	1,719	0,197
Grassilage	12,8 ^b \pm 3,60	25,5 ^a \pm 5,64	33,7 ^a \pm 6,96	3,445	0,010
Heu	15,4 \pm 5,62	20,6 \pm 5,69	22,7 \pm 5,50	1,943	0,333
TMR	35,8 \pm 7,63	36,4 \pm 1,52	37,6 \pm 4,65	1,534	0,913

Signifikante Behandlungsunterschiede im NDF-Verlust zeigten sich lediglich bei Biertreber und Grassilage. Während bei Biertreber nur die Zulage von Roxazyme® eine signifikante Erhöhung bewirkte, wurde bei Grassilage zudem durch Zulage von Celluclast® ein signifikant höherer NDF-Verlust gegenüber der Kontrolle festgestellt. Numerische Verbesserungen in Folge der Enzymzulagen konnten bei Gerste, Trockenschnitzel und Heu beobachtet werden.

3.1.2.5 Verdaulichkeit der Gesamtration

Um den Einfluss der Enzyme auf die Verdaulichkeit der verfütterten Ration zu überprüfen, wurde mit Hilfe einer Markerstudie mit Titandioxid die Verdaulichkeit von organischer Masse (OM), Rohfaser (XF), Stärke und NDF ermittelt (Tab. 29). Es ergaben sich mittlere Verdaulichkeiten von 74,4 % (OM), 68,8 % (XF) 72,6 % (NDF) und 96,5 % (Stärke). Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungen wurden nicht festgestellt.

Tab. 29: Verdaulichkeit von OM, XF, NDF und Stärke (%) der Gesamtration aus Versuch V1-2 der Behandlungen K, A2, C2 und R3 (\pm SD)

	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
OM (%)	72.5 \pm 5,61	74.2 \pm 1.73	75.8 \pm 1.99	75.0 \pm 1.59	0,866	0.660
XF (%)	67,1 \pm 5,22	68.8 \pm 3.09	70.3 \pm 3.33	69.1 \pm 1.87	0.945	0.761
NDF (%)	69,0 \pm 9,68	73,4 \pm 3,31	74,5 \pm 3,52	73,4 \pm 1,88	1,497	0.630
Stärke (%)	96.3 \pm 1.34	96.2 \pm 1.03	96.7 \pm 1.08	97.0 \pm 1.15	0.301	0.829

3.1.2.6 Einfluss auf Pansenparameter pH-Wert, NH₃-N und FFS

Als weitere Messparameter wurden je Versuchsdurchgang am letzten Tag der Messperiode an acht Entnahmezeiten Pansensaftproben der Versuchstiere entnommen und der pH-Wert, der Gehalt an NH₃-N und die Konzentration der flüchtigen Fettsäuren Essig-, Propion- und Buttersäure bestimmt. Tabelle 30 gibt die **pH-Werte** im Mittel der Tiere (n=3) der einzelnen Behandlungen K, A2, C2 und R3 wieder. Vor der Fütterung (7:00 Uhr) und 30 Min nach der Fütterung (7:30 Uhr) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen. Die Durchschnittswerte betragen 7,1 und 6,6. 60 Min nach der Fütterung (8:00 Uhr) wurde ein signifikant höherer pH-Wert bei K mit 6,6 in Bezug zu A2 (6,4) ermittelt. Die Behandlungen C2 und R3 waren mit einem mittleren Wert von 6,5 nicht signifikant beeinflusst. Ein ähnliches Bild ergab sich auch 120 Min nach der Fütterung. Der signifikant niedrigste pH-Wert wurde wieder bei der Behandlung A2 (6,4) im Vergleich zu K (6,6) und R3 (6,7) gemessen. Bei der Entnahmezeit um 11:00 Uhr zeigte sich bei R3 ein um 0,2 signifikant höherer pH-Wert in Bezug zu A2. Die

Pansensaftproben der Entnahmezeiten 10:00 Uhr, 12:00 Uhr und 13:00 Uhr mit mittleren Werten über alle Behandlungen von 6,5, 6,6 und 6,7 unterschieden sich nicht signifikant. Insgesamt lag der pH-Wert auf einem hohen Niveau mit einem mittleren Maximum von 7,0 (7:00 Uhr) und Minimum von 6,4 (7:30 Uhr). Bei Betrachtung des **NH₃-N** im Pansensaft der verschiedenen Behandlungen K, A2, C2 und R3 zeigte sich nur vor der Fütterung (7:00 Uhr) ein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungen (Tab. 31). Es wurde ein signifikant höherer NH₃-N-Gehalt bei C2 im Vergleich zu R3 mit Gehalten von 9,3 und 6,3 mg/ 100 ml ermittelt. An den restlichen Entnahmezeiten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 30: Mittlere pH-Werte im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen A2, C2 und R3 und der Kontrolle (K) (\pm SD)

Entnahmezeit	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
07:00	6,97 \pm 0,19	6,96 \pm 0,16	6,84 \pm 0,17	7,08 \pm 0,05	0,046	0,352
07:30	6,51 \pm 0,32	6,33 \pm 0,18	6,36 \pm 0,13	6,58 \pm 0,02	0,057	0,375
08:00	6,58 ^a \pm 0,10	6,41 ^b \pm 0,05	6,45 ^{ab} \pm 0,05	6,54 ^{ab} \pm 0,11	0,029	0,123
09:00	6,64 ^{ab} \pm 0,14	6,42 ^c \pm 0,12	6,45 ^{bc} \pm 0,04	6,67 ^a \pm 0,12	0,044	0,050
10:00	6,61 \pm 0,22	6,44 \pm 0,08	6,47 \pm 0,07	6,62 \pm 0,11	0,041	0,273
11:00	6,63 ^{ab} \pm 0,13	6,48 ^b \pm 0,11	6,54 ^{ab} \pm 0,06	6,70 ^a \pm 0,01	0,033	0,063
12:00	6,64 \pm 0,22	6,55 \pm 0,02	6,56 \pm 0,08	6,72 \pm 0,10	0,038	0,366
13:00	6,70 \pm 0,14	6,62 \pm 0,09	6,63 \pm 0,16	6,71 \pm 0,03	0,031	0,667

Tab. 31: Mittlere Gehalte an NH₃-N (mg/ 100 ml) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen A2, C2 und R3 und der Kontrolle (K) (\pm SD)

Entnahmezeit	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
07:00	8,24 ^{ab} \pm 1,50	8,48 ^{ab} \pm 0,88	9,26 ^a \pm 1,72	6,30 ^b \pm 0,84	0,457	0,106
07:30	15,2 \pm 5,67	16,0 \pm 0,42	17,1 \pm 3,38	10,7 \pm 3,74	1,191	0,250
08:00	16,6 \pm 2,74	15,6 \pm 3,25	18,4 \pm 0,47	15,0 \pm 3,93	0,814	0,530
09:00	16,6 \pm 3,47	16,4 \pm 1,72	16,9 \pm 4,53	16,6 \pm 1,94	0,773	0,998
10:00	15,8 \pm 4,34	12,3 \pm 1,50	14,7 \pm 2,27	12,7 \pm 0,82	0,771	0,360
11:00	12,9 \pm 5,51	8,71 \pm 1,69	11,7 \pm 2,36	10,1 \pm 1,20	0,916	0,436
12:00	8,09 \pm 2,09	7,31 \pm 1,88	7,31 \pm 1,77	7,27 \pm 1,85	0,479	0,939
13:00	6,84 \pm 2,30	4,28 \pm 1,41	6,53 \pm 4,04	6,50 \pm 3,27	0,784	0,698

Als weiteres Kriterium wurden die Konzentrationen der flüchtigen Fettsäuren Essig-, Propion- und Buttersäure im Pansensaft der Versuchstiere ermittelt (Tab. 32). Vor der Fütterung (7:00 Uhr) wurde eine mittlere **Essigsäurekonzentration** von 41,9 mmol/ l analysiert, wobei sich die Behandlungen nicht signifikant unterschieden. Numerisch zeigte sich jedoch bei der Behandlung R3 mit 36,1 mmol/ l die geringste Konzentration. Ab 30 Min nach der Fütterung wurde bei allen Entnahmezeiten die geringste Essigsäurekonzentration bei der Behandlung R3 festgestellt. Signifikant abgesichert konnten die Unterschiede zu C2 (7:30 Uhr), zu A2 (8:00 Uhr), zu A2 und C2 (9:00 Uhr), zu K, A2 und C2 (10:00/ 12:00/ 13:00 Uhr) und zu K und C2 (11:00 Uhr). Die restlichen Behandlungen zeigten bis auf die Entnahmezeit 12:00 Uhr keine signifikanten Unterschiede. Hier wies die Behandlung A2 eine signifikant geringere Konzentration in Bezug zu K und C2 auf. Der im Mittel aller Behandlungen höchste Wert wurde mit 55,0 mmol/ l eine Stunde nach der Fütterung erreicht. Ein ähnliches Bild ergab sich auch bei der Betrachtung der **Propionsäurekonzentrationen** der verschiedenen Behandlungen. Die geringste Konzentration zeigte sich, wie bei Essigsäure, bei der Behandlung R3 im gesamten Entnahmebereich. Signifikante Unterschiede wurden zu K und C2 (10:00/ 11:00 Uhr), zu K, A2 und C2 (12:00 Uhr) und zu C2 (13:00 Uhr) ermittelt. Bei den Entnahmezeiten 240 Min (11:00 Uhr) und 300 Min (12:00 Uhr) nach der Fütterung ergaben sich zudem signifikant geringere Werte bei der Behandlung A2 in Bezug zu K mit Differenzen von 2,3 bzw. 2,2 mmol/ l. Im Mittel aller Behandlungen wurde die höchste Konzentration mit 18,0 mmol/ l 60 Min nach der Fütterung erreicht. Die **Buttersäurekonzentrationen** der verschiedenen Behandlungen zeigten keine signifikanten Unterschiede. Der geringste Durchschnittswert wurde mit 6,2 mmol/ l vor der Fütterung, der Höchste mit 10,4 mmol/ l 120 Min nach der Fütterung gemessen. Bei Betrachtung der **Gesamtkonzentration** an FFS wurden an den letzten drei Entnahmezeiten um 22,9 % (11:00 Uhr), 30,4 % (12:00 Uhr) und 27,6 % (13:00 Uhr) signifikant niedrigere Konzentrationen bei R3 in Bezug zu K analysiert. Zudem zeigte sich 300 Min nach der Fütterung eine signifikante Verringerung um 18,2 % bei A2 zu K. Im Mittel aller Behandlungen und Entnahmezeiten nahm die FFS-Gesamtkonzentration einen Wert von 71,4 mmol/ l ein. Die über alle Messpunkte erhaltenen C2:C3-Verhältnisse lagen im pansenphysiologisch normalen Bereich und betragen im Mittel 3,7:1 für K, 3,9:1 für A2, 3,9 :1 für C2 und 3,8:1 für R3. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungen.

Tab. 32: Mittlere Essig-, Propion- und Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen A2, C2 und R3 und der Kontrolle (K) (\pm SD)

Essigsäure	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	A2	C2	R3		
07:00	43,3 \pm 9,28	42,2 \pm 6,73	46,1 \pm 4,19	36,1 \pm 5,85	1,997	0,382
07:30	48,3 ^{ab} \pm 6,01	52,8 ^{ab} \pm 7,87	55,0 ^a \pm 1,67	42,2 ^b \pm 5,09	2,021	0,095
08:00	54,4 ^{ab} \pm 8,22	62,2 ^a \pm 4,19	56,6 ^{ab} \pm 0,00	46,6 ^b \pm 6,66	2,190	0,057
09:00	50,0 ^{ab} \pm 7,64	57,8 ^a \pm 7,51	57,8 ^a \pm 0,96	38,3 ^b \pm 12,6	3,147	0,062
10:00	52,2 ^a \pm 6,31	52,8 ^a \pm 5,85	54,4 ^a \pm 2,55	42,8 ^b \pm 4,19	1,838	0,074
11:00	52,2 ^a \pm 6,31	49,4 ^{ab} \pm 6,31	51,1 ^a \pm 0,96	41,1 ^b \pm 3,47	1,770	0,079
12:00	55,0 ^a \pm 5,00	46,1 ^b \pm 2,55	52,8 ^a \pm 2,55	38,3 ^c \pm 3,33	2,139	0,002
13:00	51,1 ^a \pm 4,19	46,6 ^a \pm 3,33	52,2 ^a \pm 6,73	37,2 ^b \pm 2,55	2,096	0,013
Propionsäure	K	A2	C2	R3		
07:00	9,45 \pm 2,70	8,55 \pm 3,12	9,90 \pm 1,56	7,65 \pm 2,06	0,653	0,690
07:30	12,1 \pm 1,35	14,2 \pm 2,03	12,6 \pm 0,78	11,2 \pm 2,81	0,599	0,356
08:00	18,0 \pm 6,38	19,8 \pm 0,80	17,5 \pm 1,35	16,6 \pm 2,81	1,945	0,749
09:00	16,6 \pm 3,12	18,0 \pm 1,56	18,4 \pm 0,78	12,6 \pm 4,74	1,008	0,142
10:00	15,7 ^a \pm 2,06	14,8 ^{ab} \pm 1,35	15,7 ^a \pm 2,06	12,1 ^b \pm 1,35	0,618	0,104
11:00	14,4 ^a \pm 0,78	12,1 ^{bc} \pm 1,35	13,0 ^{ab} \pm 0,78	10,8 ^c \pm 1,35	0,480	0,022
12:00	13,9 ^a \pm 0,78	11,7 ^b \pm 0,78	12,6 ^{ab} \pm 0,78	9,90 ^c \pm 0,78	0,483	0,001
13:00	12,1 ^{ab} \pm 1,35	10,8 ^{ab} \pm 1,35	13,0 ^a \pm 2,81	9,00 ^b \pm 1,56	0,651	0,119
Buttersäure	K	A2	C2	R3		
07:00	6,81 \pm 3,00	5,30 \pm 1,31	7,57 \pm 2,86	5,30 \pm 1,73	0,648	0,575
07:30	7,57 \pm 1,73	7,57 \pm 1,73	9,08 \pm 1,14	7,19 \pm 2,36	0,493	0,602
08:00	9,46 \pm 2,36	9,08 \pm 0,00	10,2 \pm 1,97	9,08 \pm 3,00	0,547	0,903
09:00	11,7 \pm 3,99	9,84 \pm 1,31	12,1 \pm 2,36	7,95 \pm 4,09	0,925	0,402
10:00	12,5 \pm 5,20	9,08 \pm 1,14	10,6 \pm 1,73	8,70 \pm 2,86	0,893	0,483
11:00	12,5 \pm 6,01	8,32 \pm 0,66	10,2 \pm 1,14	9,08 \pm 1,14	0,904	0,437
12:00	12,9 \pm 4,73	9,08 \pm 1,14	10,2 \pm 1,14	8,70 \pm 1,31	0,803	0,266
13:00	12,1 \pm 4,59	8,70 \pm 0,66	11,0 \pm 3,28	8,32 \pm 0,66	0,848	0,367

Die Zulage von Amylase 7b® führte nach der Fütterung zu den geringsten pH-Werten im Pansensaft der Versuchstiere. Veränderungen zur Kontrollbehandlung konnten 60 und 120 Min nach der Fütterung signifikant abgesichert werden. Der Gehalt an NH₃-N zeigte keine signifikanten Differenzen zwischen den Enzymbehandlungen und der Kontrolle. Dagegen zeichneten sich durch die Zulage von Roxazyme® geringere Essig- und Propionsäurekonzentrationen ab. Signifikante Unterschiede zur Kontrollbehandlung waren jedoch erst ab der Entnahmezeit 10:00 Uhr ersichtlich. Unterschiede zu den Enzymbehandlungen A2 bzw. C2 hingegen konnten bei Essigsäure bereits 30 Min nach der Fütterung signifikant abgesichert werden. Diese Konzentrationsverringerungen wirkten sich auch auf die FFS-Gesamtkonzentrationen aus. Hier zeigten sich insbesondere an den letzten drei Entnahmezeiten signifikante Unterschiede zwischen R3 und K. Zudem bewirkte auch die Zulage von Amylase 7b® (300 Min nach der Fütterung) eine signifikante Verringerung verglichen mit der Kontrollbehandlung. Die Buttersäurekonzentration wurde durch keine Enzymzulage signifikant beeinflusst.

3.2 Versuchsreihe 2 (Versuch V2-1): Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen von Roxazyme® auf die Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel, Verdaulichkeit der Gesamtration, Pansenparameter und ruminale Bakterienpopulation

In Versuchsreihe 2 wurde in einem Versuch (V2-1) das Produkt Roxazyme® G2 Liquid (R) in den Konzentrationsstufen 2 (R2) und 3 (R3) mit Zugaben von 13,8 bzw. 27,7 g/ kg T im Vergleich zu einer Kontrollbehandlung (K, 0 g/ kg T) auf seine Wirksamkeit untersucht. Die in Versuch V1-1 untersuchte niedrigste Dosierung (R1) wurde nicht betrachtet. Als Messgrößen dienten die Parameter des *in situ*-Versuchs, die Verdaulichkeit der Gesamtration und die pansenphysiologischen Kenngrößen pH-Wert, NH₃-N und flüchtige Fettsäuren. Zusätzlich wurde der Einfluss des Produktes auf sechs ruminale Bakterienstämme untersucht, welche im Rahmen einer Diplomarbeit (ZEITZ, 2007) analysiert wurden. Der Versuch V2-1 gliederte sich in Anlehnung eines zweifachen 3x3 Lateinischen Quadrates in drei Durchgänge. Die Enzymzugabe erfolgte sowohl auf die *in sacco* beprobten Futtermittel (n=9) als auch auf die verfütterte Ration (TMR).

3.2.1 T-Verlust *in sacco*

In Versuch V2-1 wurden die Krafftuttermittel Gerste, Biertreber, Getreideschlempe, Rapsextraktionsschrot, Sonnenblumenextraktionsschrot, die Grundfuttermittel Mais-silage, Grassilage, Heu und eine TMR in Abhängigkeit der Enzymzulage im *in situ*-Versuch getestet. Auf Grund des Versuchsdesigns standen sechs Wiederholungen pro Behandlung zur Verfügung. Die Nullvarianten (0 h) wurden lediglich bei der Kontrolle ermittelt und für die Behandlungen R2 und R3 übernommen.

Krafftuttermittel Gerste, Biertreber, Getreideschlempe, Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot

Tabelle 33 gibt die T-Verluste von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe wieder. Die Roxazymzugabe in der höchsten Konzentrationsstufe (R3) bewirkte bei **Gerste** nach zweistündiger Inkubationsdauer eine signifikante Erhöhung im T-Verlust um im Mittel 6,0 % in Bezug zu K und R2. Nach 4 h Inkubation konnte die Verbesserung um 4,3 % lediglich zur Behandlung K signifikant abgesichert werden. Betrachtet man die

T-Verluste nach 8 h Inkubation, zeigten sich numerische Unterschiede zwischen den Roxazymebehandlungen R2 und R3 zur Kontrolle um im Mittel 2,5 %. Ab 16 h Inkubationsdauer erfolgte ein Angleichen der Behandlungen. Bei **Biertreber** zeichnete sich in den ersten vier Inkubationsstunden ein linearer Anstieg im T-Verlust mit Erhöhung der Konzentration ab. So wurden signifikante Unterschiede mit T-Verlusten von 22,8 % (K), 26,4 % (R2) und 30,3 % (R3) nach 2 h bzw. 26,0 % (K), 30,4 % (R2) und 33,1 % (R3) nach 4 h Inkubation zwischen den Behandlungen ermittelt. Nach sechzehnstündiger Inkubation wurde zudem eine signifikante Erhöhung im T-Verlust um 3,7 % bei R2 in Bezug zu K beobachtet. Signifikante Unterschiede zwischen Enzym- und Kontrollbehandlungen wurden auch bei **Getreideschlempe** bis 16 h Inkubationsdauer festgestellt. Ein Konzentrationseffekt zeigte sich jedoch nur nach vierstündiger Inkubationsdauer. Hier wurde der signifikant höchste Wert bei R3 (60,4 %) gefolgt von R2 (58,5 %) ermittelt. Die Kontrolle zeigte einen T-Verlust von 55,8 %. Nach 2, 8 und 16 h Inkubationsdauer unterschieden sich die Roxazymebehandlungen nicht signifikant voneinander, waren jedoch in Bezug zu K (außer R3, 16 h Inkubation) signifikant erhöht. Die mittleren Steigerungen zu K betrugen 3,1 % (2 h), 3,0 % (8 h) und 0,9 % (16 h). **Raps-** und **Sonnenblumenextraktionsschrot** wurden im T-Verlust nicht signifikant durch die Enzymzulagen beeinflusst (Tab. 34).

Tab. 33: T-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

	Behandlung			MSE	P-Wert
	K (0 g/ kg T)	R2 (13,8 g/ kg T)	R3 (27,7 g/ kg T)		
Gerste					
0* h	22,2 \pm 0,96	22,2 \pm 0,96	22,2 \pm 0,96	0,277	-
2 h	62,9 ^b \pm 2,63	64,9 ^b \pm 4,01	69,9 ^a \pm 3,70	1,054	0,010
4 h	73,7 ^b \pm 2,12	75,7 ^{ab} \pm 4,24	78,0 ^a \pm 1,33	0,761	0,059
8 h	81,8 \pm 3,47	84,2 \pm 1,62	84,4 \pm 1,72	0,607	0,157
16 h	87,8 \pm 0,85	87,6 \pm 1,32	87,4 \pm 0,74	0,225	0,824
24 h	89,3 \pm 0,43	89,0 \pm 0,84	89,1 \pm 0,95	0,172	0,852
48 h	91,2 \pm 0,27	90,9 \pm 0,42	91,0 \pm 0,60	0,105	0,428
72 h	91,9 \pm 0,46	91,5 \pm 0,75	91,7 \pm 0,47	0,137	0,361
Biertreber	K	R2	R3		
0 h	16,1 \pm 0,94	16,1 \pm 0,94	16,1 \pm 0,94	0,271	-
2 h	22,8 ^c \pm 1,66	26,4 ^b \pm 1,70	30,3 ^a \pm 2,73	0,877	< 0,001
4 h	26,0 ^c \pm 1,58	30,4 ^b \pm 2,30	33,1 ^a \pm 1,15	0,808	< 0,001
8 h	40,9 \pm 5,66	44,4 \pm 2,24	44,7 \pm 4,81	1,076	0,293
16 h	51,4 ^b \pm 2,81	55,1 ^a \pm 2,11	54,7 ^{ab} \pm 3,45	0,748	0,075
24 h	57,4 \pm 4,80	60,1 \pm 1,87	60,0 \pm 3,46	0,849	0,359
48 h	69,2 \pm 2,26	70,2 \pm 0,74	69,0 \pm 1,59	0,387	0,433
72 h	73,7 \pm 0,95	73,7 \pm 0,77	72,8 \pm 1,62	0,276	0,370
Getreideschlempe	K	R2	R3		
0 h	44,4 \pm 0,70	44,4 \pm 0,70	44,4 \pm 0,70	0,203	-
2 h	53,1 ^b \pm 1,03	55,8 ^a \pm 1,42	56,6 ^a \pm 0,99	0,449	< 0,001
4 h	55,8 ^c \pm 0,92	58,5 ^b \pm 1,64	60,4 ^a \pm 1,32	0,547	< 0,001
8 h	61,9 ^b \pm 1,81	64,4 ^a \pm 1,06	65,3 ^a \pm 1,36	0,470	0,003
16 h	68,0 ^b \pm 0,97	69,3 ^a \pm 0,75	68,5 ^{ab} \pm 0,99	0,242	0,066
24 h	72,7 \pm 2,54	71,6 \pm 3,65	74,5 \pm 2,25	0,698	0,250
48 h	85,2 \pm 2,03	85,1 \pm 0,95	84,6 \pm 2,38	0,423	0,820
72 h	89,4 \pm 0,48	88,1 \pm 2,30	89,4 \pm 0,80	0,349	0,237

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Tab. 34: T-Verluste (%) von Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

Rapsextr.schrot	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
0 h*	19,9 \pm 1,22	19,9 \pm 1,22	19,9 \pm 1,22	0,352	-
2 h	30,6 \pm 0,89	30,8 \pm 0,56	31,3 \pm 1,09	0,204	0,446
4 h	35,7 \pm 1,68	36,5 \pm 1,81	37,0 \pm 1,20	0,375	0,367
8 h	58,4 \pm 5,81	62,4 \pm 4,63	58,4 \pm 5,83	1,292	0,358
16 h	75,7 \pm 7,38	78,5 \pm 4,13	79,8 \pm 1,53	1,173	0,371
24 h	81,1 \pm 1,07	81,5 \pm 0,43	81,7 \pm 0,31	0,163	0,391
48 h	82,4 \pm 0,48	82,2 \pm 0,80	82,1 \pm 0,31	0,129	0,656
72 h	81,7 \pm 0,43	81,5 \pm 0,60	81,3 \pm 0,92	0,155	0,672
Sonnenbl.extr.schrot	K	R2	R3		
0 h	21,9 \pm 0,12	21,9 \pm 0,12	21,9 \pm 0,12	0,035	-
2 h	38,7 \pm 1,49	39,0 \pm 1,82	41,1 \pm 2,86	0,539	0,141
4 h	45,9 \pm 1,17	46,0 \pm 3,80	47,9 \pm 2,13	0,617	0,358
8 h	66,0 \pm 3,16	65,1 \pm 3,35	65,1 \pm 6,00	0,973	0,915
16 h	74,1 \pm 2,58	73,6 \pm 2,09	75,6 \pm 0,82	0,482	0,237
24 h	77,1 \pm 0,78	76,5 \pm 1,30	77,7 \pm 0,99	0,260	0,177
48 h	78,6 \pm 0,44	78,4 \pm 0,22	78,6 \pm 1,19	0,166	0,838
72 h	78,5 \pm 0,82	78,9 \pm 0,83	78,9 \pm 0,41	0,164	0,544

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage, Heu und TMR

Tabelle 35 gibt die T-Verluste bei den Silagen wieder. Nach zweistündiger Inkubation zeigte sich bei **Maissilage** wiederum ein deutlicher Konzentrationseinfluss des Enzyms. Der signifikant höchste Wert wurde bei R3 gefolgt von den Behandlungen R2 und K mit Werten von 44,2, 43,1 und 41,2 % ermittelt. Nach 4 bzw. 8 h Inkubationsdauer waren zwischen den Roxazymebehandlungen keine signifikanten Unterschiede festzustellen. Jedoch zeigten sich jeweils signifikante Erhöhungen in Bezug zur Kontrolle um etwa 3 %. Die Behandlungen R3 und K unterschieden sich nach achtstündiger Inkubation nur numerisch. Bei Betrachtung der **Grassilage** zeigte sich eine signifikante Verbesserung im T-Verlust nach 2 h Inkubation lediglich bei der

hohen Enzymkonzentration R3 mit einem Wert von 39,0 % gegenüber der Kontrolle (36,9 %). Dagegen wurden nach 4 h bei beiden Enzymzulagen ein signifikant positiver Effekt mit einer mittleren Erhöhung um 3,2 % in Bezug zu K ermittelt. **Heu** (Tab. 36) hingegen erreichte mit 21,3 % bei Behandlung R3 einen signifikant geringeren T-Verlust nach zweistündiger Inkubation in Bezug zu K (22,7 %). Bei der **TMR** (Tab. 36) konnte lediglich nach vierstündiger Inkubation eine signifikante Verbesserung bei R3 in Bezug zu K um 2,9 % ermittelt werden.

Tab. 35: T-Verluste (%) von Mais- und Grassilage des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

Maissilage	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
0 h*	42,2 \pm 0,38	42,2 \pm 0,38	42,2 \pm 0,38	0,110	-
2 h	41,2 ^c \pm 0,41	43,1 ^b \pm 0,97	44,2 ^a \pm 0,60	0,339	< 0,001
4 h	41,5 ^b \pm 1,34	44,0 ^a \pm 1,37	45,3 ^a \pm 0,91	0,468	< 0,001
8 h	46,3 ^b \pm 3,20	50,4 ^a \pm 1,78	48,8 ^{ab} \pm 1,97	0,668	0,033
16 h	57,4 \pm 2,35	54,8 \pm 4,65	57,5 \pm 3,96	0,888	0,406
24 h	63,8 \pm 3,86	64,9 \pm 4,03	65,5 \pm 3,26	0,843	0,735
48 h	76,7 \pm 1,81	73,4 \pm 6,47	75,9 \pm 3,97	1,055	0,428
72 h	80,1 \pm 1,33	78,4 \pm 3,83	79,3 \pm 2,35	0,620	0,585
Grassilage	K	R2	R3		
0 h	35,6 \pm 1,00	35,6 \pm 1,00	35,6 \pm 1,00	0,289	-
2 h	36,9 ^b \pm 1,08	37,8 ^b \pm 0,54	39,0 ^a \pm 1,09	0,294	0,005
4 h	39,2 ^b \pm 1,47	41,6 ^a \pm 1,52	43,2 ^a \pm 2,62	0,586	0,010
8 h	51,5 \pm 5,51	54,5 \pm 4,58	53,2 \pm 3,60	1,068	0,543
16 h	68,7 \pm 5,08	66,8 \pm 3,71	67,5 \pm 4,30	0,993	0,747
24 h	74,2 \pm 5,35	74,8 \pm 2,74	76,9 \pm 1,82	0,850	0,424
48 h	82,1 \pm 1,58	80,3 \pm 5,41	82,3 \pm 2,30	0,809	0,560
72 h	84,6 \pm 0,85	83,8 \pm 1,25	83,8 \pm 1,82	0,313	0,574

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Tab. 36: T-Verluste (%) von Heu und TMR des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

Heu	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
0 h*	19,9 \pm 1,55	19,9 \pm 1,55	19,9 \pm 1,55	0,446	-
2 h	22,7 ^a \pm 0,90	21,9 ^{ab} \pm 1,16	21,3 ^b \pm 0,71	0,246	0,078
4 h	24,2 \pm 0,94	23,2 \pm 1,24	23,4 \pm 0,66	0,239	0,221
8 h	32,0 \pm 3,01	31,6 \pm 1,40	31,3 \pm 0,33	0,600	0,892
16 h	46,7 \pm 4,30	46,8 \pm 5,99	49,6 \pm 2,32	1,042	0,452
24 h	60,4 \pm 2,72	58,6 \pm 5,59	60,1 \pm 4,75	1,019	0,762
48 h	72,1 \pm 1,06	70,0 \pm 2,45	68,8 \pm 6,15	0,920	0,347
72 h	74,9 \pm 1,48	74,8 \pm 1,70	74,7 \pm 0,74	0,305	0,946

TMR	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
0 h	35,4 \pm 0,80	35,4 \pm 0,80	35,4 \pm 0,80	0,230	-
2 h	42,9 \pm 1,26	44,3 \pm 1,86	45,0 \pm 2,05	0,444	0,135
4 h	46,3 ^b \pm 1,91	47,6 ^{ab} \pm 2,04	49,2 ^a \pm 1,28	0,487	0,040
8 h	55,2 \pm 3,54	57,2 \pm 3,54	56,9 \pm 2,88	0,768	0,542
16 h	65,9 \pm 2,06	65,8 \pm 3,49	65,4 \pm 3,38	0,677	0,957
24 h	70,4 \pm 4,54	71,7 \pm 1,50	71,0 \pm 4,04	0,810	0,827
48 h	78,7 \pm 1,42	79,4 \pm 1,29	78,7 \pm 2,62	0,423	0,747
72 h	82,2 \pm 1,14	82,2 \pm 0,69	81,3 \pm 1,56	0,283	0,317

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Bei Betrachtung der T-Verluste in den verschiedenen Inkubationszeiten zeigten sich insbesondere in den ersten 8 bis max. 16 h Behandlungseffekte. Bei den Kraftfuttermitteln Gerste, Biertreber, Getreideschlempe und den Grundfuttermitteln Maissilage, Grassilage und der TMR wurden in der Regel immer die höchsten Verluste bei der hohen Enzymdosis R3 ermittelt. Ein signifikant positiver Zusatzeffekt der höheren Dosierung R3 in Bezug zu R2 war jedoch nicht immer feststellbar. Bei den Extraktionsschroten und dem Heu waren geringe bis keine Effekte der Enzymzulagen zu beobachten.

3.2.2 Parameter der potentiellen Abbaubarkeit

Kraftfuttermittel Gerste, Biertreber, Getreideschlempe, Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot

Tabelle 37 zeigt die *in sacco*-Parameter für Gerste, Biertreber und Getreideschlempe in Abhängigkeit der Enzymzulage. Die Applikation von R3 wirkte sich signifikant positiv auf die Abbaurrate c von **Gerste** mit einer Steigerung von 16,8 %/ h in Bezug zu K aus. Die Behandlungen R2 und K unterschieden sich trotz einer Differenz von 6,2 %/ h nicht signifikant. Auch bei **Biertreber** wurde eine signifikante Erhöhung der Fraktion c durch die Enzymzulagen beobachtet. Die mittlere Erhöhung in Bezug zur Kontrolle betrug 1,5 %/ h. Die schnell abbaubare Fraktion a wurde zudem bei R3 um 2,8 % zu K signifikant positiv beeinflusst. Jedoch zeigten sich in Folge der Enzymapplikation mit 51,6 % (R3) und 54,8 % (R2) signifikant geringere Werte der Fraktion b (nicht löslich, aber abbaubar) im Vergleich zu K (56,8 %). Diese Verringerung übertrug sich auch auf die potentiell abbaubare Fraktion (d) des Biertreibers, welche bei R3 mit 71,0 % signifikant niedriger war als bei der Kontrolle (73,5 %). Dagegen wurde bei **Getreideschlempe** keine Beeinflussung der Abbaurrate c durch die Enzyme beobachtet. Jedoch zeigten sich wiederum signifikant positive Effekte der Enzyme in Abhängigkeit ihrer Dosierung auf die schnell abbaubare Fraktion a mit Werten von 50,5 % (R3), 49,6 % (R2) und 47,8 % (K). Die nicht lösliche, aber abbaubare Fraktion (b) hingegen wies mit einer Differenz von 4,2 % zu den Enzymbehandlungen den signifikant höchsten Anteil bei der Kontrolle auf, was sich auch in der potentiell abbaubaren Fraktion d widerspiegelte. Hier zeigte sich eine signifikante Verringerung um 2,5 % bei R2 in Bezug zu K. Tabelle 38 stellt die *in sacco*-Parameter von **Raps-** und **Sonnenblumenextraktionsschrot** dar. Die Behandlung der Futtermittel mit Roxazyme® führte dabei zu keiner Beeinflussung der Parameter. Die lag time wurde bei keinem Kraftfuttermittel beeinflusst.

Tab. 37: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t₀ von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (± SD)

Gerste	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
a (%)	23,2 ± 1,25	22,8 ± 1,12	22,7 ± 0,78	0,243	0,673
b (%)	65,9 ± 1,23	66,2 ± 1,48	66,0 ± 1,02	0,280	0,931
c (% h ⁻¹)	39,9 ^b ± 5,26	46,1 ^b ± 9,65	56,7 ^a ± 7,38	2,382	0,006
d (%)	89,1 ± 0,22	89,0 ± 0,62	88,6 ± 0,63	0,128	0,238
t ₀ (h)	0,00	0,00	0,00	0,000	-
Biertreber	K	R2	R3		
a (%)	16,6 ^b ± 0,66	17,6 ^b ± 0,92	19,4 ^a ± 0,95	0,339	< 0,001
b (%)	56,8 ^a ± 0,80	54,8 ^b ± 0,86	51,6 ^c ± 1,26	0,564	< 0,001
c (% h ⁻¹)	6,02 ^b ± 0,99	7,26 ^a ± 0,51	7,69 ^a ± 1,32	0,280	0,029
d (%)	73,5 ^a ± 1,17	72,4 ^{ab} ± 0,78	71,0 ^b ± 1,76	0,375	0,020
t ₀ (h)	0,26 ± 0,38	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,057	0,101
Getreideschlempe	K	R2	R3		
a (%)	47,8 ^c ± 0,47	49,6 ^b ± 0,45	50,5 ^a ± 0,50	0,285	< 0,001
b (%)	43,6 ^a ± 0,96	39,4 ^b ± 2,19	39,5 ^b ± 1,42	0,594	< 0,001
c (% h ⁻¹)	4,04 ± 0,50	4,48 ± 0,35	4,40 ± 0,61	0,120	0,301
d (%)	91,5 ^a ± 0,99	89,0 ^b ± 1,83	89,9 ^{ab} ± 1,80	0,427	0,055
t ₀ (h)	0,00	0,00	0,00	0,000	-

a = lösliche Fraktion, b = unlösliche, abbaubare Fraktion, c = Abbaurrate von b, d = (a + b) = potentiell abbaubare Fraktion, t₀ = lag time = Verzögerungszeit bis Abbaubeginn

Tab. 38: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t₀ von Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot des Versuches V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (± SD)

Rapsextr.schrot	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
a (%)	19,9 ± 1,09	19,9 ± 1,09	19,9 ± 1,09	0,242	1,000
b (%)	63,4 ± 1,24	62,9 ± 0,53	63,4 ± 1,14	0,231	0,681
c (% h ⁻¹)	13,3 ± 3,16	15,4 ± 1,64	14,2 ± 2,46	0,592	0,360
d (%)	83,3 ± 0,57	82,9 ± 1,20	83,3 ± 0,45	0,187	0,549
t ₀ (h)	0,95 ± 0,46	1,16 ± 0,11	1,03 ± 0,16	0,067	0,484

Sonnenbl.extr.schrot	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
a (%)	22,1 ± 0,23	22,1 ± 0,40	22,6 ± 0,65	0,115	0,151
b (%)	56,3 ± 0,75	56,2 ± 0,46	56,3 ± 0,63	0,139	0,966
c (% h ⁻¹)	17,5 ± 2,54	16,8 ± 2,79	17,5 ± 2,95	0,617	0,870
d (%)	78,5 ± 0,80	78,4 ± 0,72	78,9 ± 0,46	0,159	0,395
t ₀ (h)	0,24 ± 0,28	0,13 ± 0,14	0,06 ± 0,12	0,046	0,264

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage, Heu und TMR

Tabelle 39 gibt die Fraktionen a, b, c und die lag time (t₀) bei Mais- und Grassilage wieder. Die Enzymzulage bewirkte bei **Maissilage** in beiden Konzentrationsstufen eine signifikante Erhöhung der Fraktion a um im Mittel 0,7 % in Bezug zur Kontrolle. Auffällig ist zudem eine Verringerung der lag time um 3,7 h (R2) bzw. 3,0 h (R3) in Bezug zur Kontrolle, was aber nicht statistisch abzusichern war. Dagegen ergaben sich bei **Grassilage** signifikante Unterschiede in der lag time zwischen den Enzymbehandlungen und der Kontrolle. Die mittlere Differenz betrug 1,4 h. Die restlichen Parameter wurden nicht beeinflusst. Bei **Heu** (Tab. 40) zeigte sich eine signifikante Verringerung der potentiell abbaubaren Fraktion d um im Mittel 2,3 % durch die Enzymzugabe R3 gegenüber K und R2. Die signifikante Erhöhung der schnell abbaubaren Fraktion a bei der **TMR** (Tab. 40) um 1,2 % ging mit einer signifikanten Verringerung der Fraktion b um 2,5 % zwischen den Behandlungen R3 und K überein.

Tab. 39: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t₀ von Mais- und Grassilage des Versuches V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (± SD)

Maissilage	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
a (%)	41,7 ^b ± 0,31	42,3 ^a ± 0,36	42,5 ^a ± 0,59	0,126	0,018
b (%)	41,2 ± 3,76	40,9 ± 5,17	41,2 ± 4,51	1,001	0,994
c (% h ⁻¹)	6,24 ± 5,88	3,52 ± 1,33	4,43 ± 2,75	0,891	0,474
d (%)	82,9 ± 3,64	83,3 ± 5,11	83,7 ± 4,16	0,964	0,961
t ₀ (h)	6,02 ± 3,69	2,34 ± 1,73	3,01 ± 4,49	0,867	0,186

Grassilage	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
a (%)	36,1 ± 1,15	35,9 ± 1,23	35,6 ± 0,91	0,250	0,748
b (%)	48,2 ± 1,59	47,1 ± 4,07	48,9 ± 2,12	0,647	0,543
c (% h ⁻¹)	8,43 ± 2,22	8,19 ± 2,04	7,37 ± 0,76	0,412	0,572
d (%)	84,3 ± 0,77	83,0 ± 3,49	84,5 ± 2,13	0,556	0,516
t ₀ (h)	3,10 ^a ± 0,81	2,03 ^b ± 1,08	1,39 ^b ± 0,38	0,247	0,008

Tab. 40: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t₀ von Heu und TMR des Versuches V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (± SD)

Heu	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
a (%)	20,7 ± 1,56	20,6 ± 1,60	20,5 ± 1,55	0,348	0,982
b (%)	56,8 ± 2,23	56,6 ± 3,98	54,5 ± 2,37	0,703	0,360
c (% h ⁻¹)	5,16 ± 0,89	5,47 ± 2,10	6,19 ± 1,80	0,386	0,564
d (%)	77,5 ^a ± 1,17	77,2 ^a ± 2,50	75,1 ^b ± 1,04	0,461	0,049
t ₀ (h)	2,88 ± 1,02	3,25 ± 1,68	3,59 ± 1,75	0,344	0,727

TMR	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
a (%)	36,5 ^b ± 0,59	37,1 ^{ab} ± 0,97	37,7 ^a ± 1,05	0,233	0,082
b (%)	45,3 ^a ± 0,90	44,6 ^{ab} ± 1,04	42,8 ^b ± 2,94	0,486	0,095
c (% h ⁻¹)	6,42 ± 1,05	6,87 ± 1,08	6,91 ± 0,53	0,211	0,603
d (%)	81,8 ± 0,99	81,7 ± 1,15	80,6 ± 2,15	0,362	0,323
t ₀ (h)	0,06 ± 0,11	0,05 ± 0,12	0,00 ± 0,00	0,022	0,520

Bei Gerste, Biertreber, Getreideschlempe und der TMR äußerten die Enzyme ihre Wirkung entweder durch die Erhöhung der löslichen Fraktion a, was immer mit einer Verringerung der nicht löslichen, aber abbaubaren Fraktion b verbunden war, oder auch durch die Verbesserung der Abbaurrate von b (Fraktion c). Dagegen erfolgte bei den Grundfuttermitteln Maissilage, Grassilage und Heu in erster Linie eine Beeinflussung der lag time (t_0). Die Extraktionsschrote zeigten keine signifikanten Veränderungen in den Parametern der potentiellen Abbaubarkeit durch die Enzymzulagen.

3.2.3 Effektive ruminale Abbaubarkeit

Kraffuttermittel Gerste, Biertreber, Getreideschlempe, Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot

Die effektive Abbaubarkeit der Trockensubstanz von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe ist in Tabelle 41 dargestellt. Die **Gerste** zeigte signifikant höhere effektive Abbaubarkeiten bei Passageraten von 6 und 8 %/ h durch die hohe Enzymzugabe R3 in Bezug zur Kontrolle. Bei Betrachtung des **Biertreibers** hingegen konnten sowohl bereits bei der niedrigeren Konzentrationsstufe R2 als auch bei einer geringen Passagerate ($k=0,02$) signifikant positive Effekte festgestellt werden. Die höhere Enzymgabe R3 brachte keinen Zusatznutzen. Bei **Getreideschlempe** hingegen konnten wiederum nur bei Passageraten von 6 und 8 %/ h signifikante Enzymeinflüsse beobachtet werden. Die Steigerungen betragen etwa 1,5 % gegenüber der Kontrolle. Die **Extraktionsschrote** (Tab. 42) wurden in ihrer effektiven Abbaubarkeit nicht durch die Enzymzulagen beeinflusst. Bei Sonnenblumenextraktionsschrot kann lediglich von einer tendenziellen Verbesserung durch die Zulage von R3 ausgegangen werden.

Tab. 41: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD)

Gerste	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
k=0,02	86,0 \pm 0,31	86,2 \pm 0,80	86,3 \pm 0,73	0,149	0,613
k=0,04	83,1 \pm 0,56	83,6 \pm 1,13	84,2 \pm 0,90	0,228	0,121
k=0,06	80,4 ^b \pm 0,77	81,2 ^{ab} \pm 1,45	82,2 ^a \pm 1,08	0,308	0,049
k=0,08	78,0 ^b \pm 0,95	79,0 ^{ab} \pm 1,73	80,4 ^a \pm 1,26	0,378	0,030
Biertreber	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
k=0,02	58,6 ^b \pm 1,66	60,5 ^a \pm 0,70	60,2 ^{ab} \pm 1,86	0,392	0,077
k=0,04	49,6 ^b \pm 2,13	52,9 ^a \pm 0,85	53,2 ^a \pm 2,16	0,562	0,007
k=0,06	44,0 ^b \pm 2,15	47,6 ^a \pm 0,93	48,2 ^a \pm 2,28	0,617	0,003
k=0,08	40,0 ^b \pm 2,08	43,6 ^a \pm 0,96	44,6 ^a \pm 2,29	0,636	0,002
Getreideschlempe	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
k=0,02	76,9 \pm 0,89	76,8 \pm 1,42	77,5 \pm 1,08	0,264	0,600
k=0,04	69,7 \pm 0,98	70,4 \pm 1,19	71,0 \pm 1,07	0,274	0,136
k=0,06	65,3 ^b \pm 0,93	66,4 ^{ab} \pm 1,01	67,1 ^a \pm 1,02	0,279	0,026
k=0,08	62,4 ^b \pm 0,85	63,7 ^a \pm 0,87	64,4 ^a \pm 0,95	0,279	0,005

Tab. 42: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD)

Rapsextr.schrot	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
k=0,02	68,6 \pm 1,63	67,6 \pm 1,35	68,7 \pm 1,47	0,353	0,367
k=0,04	60,4 \pm 1,21	59,8 \pm 1,08	60,7 \pm 1,06	0,265	0,371
k=0,06	55,4 \pm 0,72	55,2 \pm 0,92	55,9 \pm 0,79	0,192	0,373
k=0,08	51,4 \pm 0,64	51,4 \pm 0,84	51,9 \pm 0,73	0,174	0,382
Sonnenbl.extr.schrot	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
k=0,02	70,5 \pm 1,92	71,3 \pm 1,48	72,5 \pm 1,25	0,399	0,129
k=0,04	65,3 \pm 1,99	66,2 \pm 1,76	67,6 \pm 1,64	0,459	0,120
k=0,06	61,4 \pm 1,74	62,2 \pm 1,85	63,7 \pm 1,87	0,463	0,126
k=0,08	58,1 \pm 1,59	58,8 \pm 1,94	60,4 \pm 2,04	0,472	0,136

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage, Heu und TMR

Die effektiven Abbaubarkeiten der Silagen, des Heus und der TMR sind in den Tabellen 43 und 44 dargestellt. Bei **Maissilage** zeigten sich lediglich tendenzielle Verbesserungen in Folge der Roxazymezulagen um etwa 3 % gegenüber der Kontrolle. Dagegen zeichnete sich bei **Grassilage** ein deutlicher Enzymeinfluss ab. Bei Passageraten von 2, 4 und 6 %/ h konnten durch die Zulage der hohen Enzymdosis R3 signifikant höhere effektive Abbaubarkeiten in Bezug zur Kontrolle um 3,7, 4,7 bzw. 4,2 % festgestellt werden. Bei Annahme einer hohen Passagerate ($k=0,08$) konnte die Erhöhung in der Abbaubarkeit jedoch auch bei R2 statistisch abgesichert werden. **Heu** und **TMR** (Tab. 44) wurden nicht durch die Enzymzulagen beeinflusst.

Tab. 43: Effektive T-Abbaubarkeiten von Mais- und Grassilage des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD)

Maissilage	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
k=0,02	63,7 \pm 8,91	66,3 \pm 3,28	65,5 \pm 5,39	1,421	0,759
k=0,04	54,1 \pm 5,32	57,5 \pm 2,55	57,5 \pm 4,70	1,041	0,313
k=0,06	50,7 \pm 3,88	53,7 \pm 2,21	54,0 \pm 3,68	0,823	0,202
k=0,08	48,5 \pm 2,97	51,3 \pm 1,95	51,6 \pm 3,02	0,686	0,121
Grassilage	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
k=0,02	67,5 ^b \pm 1,67	68,7 ^{ab} \pm 2,94	71,2 ^a \pm 1,80	0,615	0,032
k=0,04	57,9 ^b \pm 1,78	60,2 ^{ab} \pm 2,55	62,6 ^a \pm 1,83	0,655	0,005
k=0,06	53,7 ^b \pm 1,68	55,9 ^{ab} \pm 2,00	57,9 ^a \pm 1,70	0,579	0,004
k=0,08	50,6 ^b \pm 1,62	52,7 ^a \pm 1,66	54,5 ^a \pm 1,60	0,528	0,003

Tab. 44: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Heu und TMR des Versuches V2-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD)

Heu	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
k=0,02	57,8 \pm 1,17	55,7 \pm 2,85	54,9 \pm 3,47	0,661	0,197
k=0,04	45,1 \pm 1,87	43,2 \pm 2,39	42,9 \pm 3,35	0,623	0,318
k=0,06	39,6 \pm 1,75	38,0 \pm 1,75	37,9 \pm 2,68	0,503	0,324
k=0,08	35,8 \pm 1,67	34,4 \pm 1,41	34,5 \pm 2,20	0,427	0,328
TMR	K	R2	R3		
k=0,02	70,7 \pm 1,43	71,4 \pm 1,01	70,9 \pm 1,47	0,300	0,681
k=0,04	64,0 \pm 1,64	65,0 \pm 1,46	64,8 \pm 1,16	0,333	0,491
k=0,06	59,5 \pm 1,65	60,6 \pm 1,59	60,6 \pm 0,97	0,341	0,364
k=0,08	56,3 \pm 1,57	57,4 \pm 1,61	57,5 \pm 0,85	0,335	0,277

Die effektiven T-Abbaubarkeiten wurden bei Gerste und Getreideschlempe erst ab einer Passagerate von 6 %/ h signifikant positiv durch die Enzymzulagen beeinflusst. Bei Biertreber und Grassilage hingegen war bereits bei der geringsten angenommenen Passagerate von 2 %/ h ein Effekt zu beobachten. Dabei zeichneten sich bereits bei der niedrigeren Enzymzulage R2 höhere effektive Abbaubarkeiten ab, welche jedoch nicht immer signifikant zur Kontrolle abgesichert werden konnten. Die Roxazymebehandlung R3 erreichte durchweg die besten Abbaubarkeiten. Bei Maissilage, Heu, TMR und den Extraktionsschroten konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungen berechnet werden.

3.2.4 NDF-Verlust

Da es sich bei Roxazyme® vorrangig um die NSP-spaltenden Enzyme Cellulase und Xylanase handelt, wurde in einem weiteren Schritt der NDF-Verlust bei den untersuchten Futtermitteln nach vierstündiger Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Behandlungen K, R2 und R3 ermittelt (Tab. 45). Bei **Getreideschlempe**, **Mais-** und **Grassilage** wurde bereits bei der niedrigeren Konzentrationsstufe R2 eine signifikante Erhöhung im NDF-Verlust beobachtet, welche auch durch die hohe Dosierung R3 nicht mehr signifikant verbessert werden konnte. Die mittleren Differenzen der Roxazymebehandlungen zur Kontrolle betragen 5,9 %

(Getreideschlempe), 2,0 % (Maissilage) und 3,9 % (Grassilage). Dagegen zeigten sich bei **Biertreber** und **Rapsextraktionsschrot** deutliche Konzentrationseffekte. Dies äußerte sich mit signifikant höhere NDF-Verluste bei R3 gegenüber R2. Die Kontrollbehandlungen wiesen die signifikant geringsten NDF-Verluste auf. Bei der **TMR** konnte nur durch die hohe Enzymzulage R3 eine signifikante Verbesserung um 3,5 % zu K ermittelt werden. **Gerste**, **Sonnenblumenextraktionsschrot** und **Heu** unterschieden sich nicht signifikant zwischen den einzelnen Behandlungen.

Tab. 45: NDF-Verluste (%) der in V2-1 untersuchten Futtermittel nach 4 h Inkubationszeit bei den Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SD)

	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
Gerste	18,3 \pm 3,23	20,7 \pm 5,68	21,7 \pm 4,96	1,106	0,445
Biertreber	8,88 ^c \pm 2,44	16,8 ^b \pm 2,01	19,6 ^a \pm 2,01	1,200	< 0,001
Getreideschlempe	30,2 ^b \pm 1,24	35,3 ^a \pm 1,71	36,8 ^a \pm 2,33	0,795	< 0,001
Rapsextr.schrot	6,94 ^c \pm 1,63	9,70 ^b \pm 2,68	12,6 ^a \pm 1,90	0,730	0,001
Sonnenbl.extr.schrot	7,64 \pm 2,02	6,20 \pm 3,81	8,06 \pm 2,36	0,654	0,528
Maissilage	0,57 ^b \pm 0,80	2,05 ^a \pm 1,35	3,15 ^a \pm 1,03	0,351	0,003
Grassilage	3,87 ^b \pm 1,76	7,12 ^a \pm 1,35	8,43 ^a \pm 3,38	0,695	0,012
Heu	2,54 \pm 1,24	2,26 \pm 1,41	3,60 \pm 1,09	0,311	0,181
TMR	4,26 ^b \pm 1,58	5,05 ^b \pm 1,74	7,74 ^a \pm 1,85	0,526	0,008

Die Zulage von Roxazyme® führte bei den untersuchten Futtermitteln, mit Ausnahme von Gerste, Sonnenblumenextraktionsschrot und Heu, nach vierstündiger Inkubation zu erhöhten NDF-Verlusten. Zudem zeigte sich R3 gegenüber R2 als effektiver, was jedoch nicht immer statistisch abzusichern war.

3.2.5 Verdaulichkeit der Gesamtration

Tabelle 46 zeigt die in Versuch V2-1 gemessenen Verdaulichkeiten der Gesamtration in Abhängigkeit der Enzymzulage. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen K, R2 und R3 ermittelt. Die mittleren Verdaulichkeiten betragen 73,5 % für die organische Masse (OM), 64,0 % für Rohfaser (XF) und 61,7 % für NDF.

Tab. 46: Verdaulichkeit von OM, XF und NDF (%) der Gesamtration aus Versuch V2-1 der Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SD)

	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
OM (%)	73,3 \pm 2,76	73,9 \pm 2,39	73,4 \pm 2,71	0,585	0,911
XF (%)	63,2 \pm 3,75	64,3 \pm 4,13	64,4 \pm 3,16	0,830	0,827
NDF (%)	61,2 \pm 2,84	62,9 \pm 2,93	61,0 \pm 4,09	0,767	0,576

3.2.6 Einfluss auf Pansenparameter pH-Wert, NH₃-N und flüchtige Fettsäuren

In Tabelle 47 ist der **pH-Wert** an den acht Entnahmezeitpunkten 7:00, 7:30, 8:00, 9:00, 10:00, 11:00, 12:00 und 13:00 Uhr der Behandlungen Kontrolle, Roxazyme® R2 und Roxazyme® R3 dargestellt. Die Enzymzulagen bewirkten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen. Der höchste pH-Wert wurde im Mittel vor der Fütterung (7:00 Uhr) mit 7,0, das Minimum 30 Min nach der Fütterung mit 6,6 gemessen. Mit einem mittleren Wert von 6,8 über alle Entnahmezeiten lag der pH-Wert auf einem hohen Niveau. Als weiteres Kriterium galt die Darstellung der N-Versorgung der Pansenmikroben, welcher sich im **NH₃-N** im Pansensaft der Versuchstiere widerspiegelt (Tab. 48). Vor der Fütterung wurde im Mittel der drei Versuchsbehandlungen ein NH₃-N-Gehalt von 7,7 mg/ 100 ml ermittelt, welcher 60 Min (8:00 Uhr) nach der Fütterung bis auf 14,5 mg/ 100 ml anstieg. Das mittlere Minimum wurde 300 Min (12:00 Uhr) nach der Fütterung mit 6,2 mg/ 100 ml analysiert. Signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen wurden nicht festgestellt.

Tab. 47: Mittlere pH-Werte im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen (R2 und R3) und der Kontrolle (K) (\pm SD)

Entnahmezeit	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
07:00	7,00 \pm 0,17	7,01 \pm 0,14	7,05 \pm 0,09	0,030	0,807
07:30	6,66 \pm 0,07	6,60 \pm 0,21	6,63 \pm 0,14	0,034	0,786
08:00	6,70 \pm 0,08	6,65 \pm 0,12	6,68 \pm 0,17	0,028	0,821
09:00	6,76 \pm 0,09	6,69 \pm 0,14	6,64 \pm 0,18	0,034	0,360
10:00	6,73 \pm 0,08	6,69 \pm 0,08	6,74 \pm 0,13	0,023	0,673
11:00	6,80 \pm 0,08	6,75 \pm 0,10	6,84 \pm 0,17	0,028	0,485
12:00	6,85 \pm 0,06	6,79 \pm 0,13	6,81 \pm 0,14	0,026	0,635
13:00	6,85 \pm 0,08	6,84 \pm 0,10	6,84 \pm 0,09	0,020	0,976

Tab. 48: Mittlere Gehalte an NH₃-N (mg/ 100 ml) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen (R2 und R3) und der Kontrolle (K) (\pm SD)

Entnahmezeit	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
07:00	7,73 \pm 0,67	7,87 \pm 2,28	7,49 \pm 0,69	0,319	0,900
07:30	13,2 \pm 1,66	13,0 \pm 4,35	12,7 \pm 1,67	0,634	0,971
08:00	14,2 \pm 2,24	15,4 \pm 2,54	13,8 \pm 2,45	0,561	0,487
09:00	11,4 \pm 0,86	12,6 \pm 2,01	13,0 \pm 3,31	0,536	0,434
10:00	9,33 \pm 2,30	9,34 \pm 2,15	8,69 \pm 1,87	0,473	0,832
11:00	8,13 \pm 2,87	8,02 \pm 3,35	9,58 \pm 2,76	0,687	0,615
12:00	5,43 \pm 2,31	6,85 \pm 2,38	5,86 \pm 1,96	0,513	0,538
13:00	5,76 \pm 2,96	6,41 \pm 3,09	6,46 \pm 1,82	0,599	0,882

Inwieweit die exogene Enzymzufuhr mikrobielle Abbauprodukte im Pansen beeinflusst, ist durch die Analyse der flüchtigen Fettsäuren Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure aufgeführt. Tabelle 49 zeigt die Konzentrationen der einzelnen flüchtigen Fettsäuren an den acht Entnahmezeiten in Abhängigkeit der Enzymapplikation. Die **Essigsäurekonzentration** zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen. Der höchste Wert wurde im Mittel aller Behandlungen mit 51,1 mmol/ l 60 Min nach der TMR-Vorlage gemessen. Vor der

Fütterung (7:00 Uhr) wurde mit 42,9 mmol/ l die geringste Konzentration analysiert. Dagegen zeigte sich bei der **Propionsäurekonzentration** vor der Fütterung der signifikant höchste Gehalt mit 9,4 mmol/ l bei der Kontrollgruppe, welcher eine Differenz von 1,8 mmol/ l zu R3 aufwies. Nach der Fütterung wurden bei der Enzymzulage R2 an allen Entnahmezeiten höhere Propionsäurekonzentrationen im Vergleich zur Kontrolle festgestellt, was 180 Min nach der Fütterung (10:00 Uhr) signifikant abgesichert werden konnte. Hier zeigte sich eine signifikante Erhöhung um 2,7 mmol/ l bei R2 in Bezug zu K. Die Behandlung R3 wurde mit einer Konzentration von 12,3 mmol/ l nicht signifikant beeinflusst. Auch bei Betrachtung der **Buttersäurekonzentration** im Pansensaft der Versuchstiere wurden nach der Fütterung die höchsten Werte bei den Enzymbehandlungen festgestellt, welche sich jedoch nur numerisch zur Kontrollgruppe unterschieden. Von einer tendenziellen Beeinflussung durch die Enzymzulage kann mit Werten von 7,2 (K), 9,8 (R2) und 10,0 (R3) mmol/ l 180 Min nach der Fütterung ($P < 0,10$) ausgegangen werden. Die **Gesamtkonzentration** an flüchtigen Fettsäuren unterschieden sich mit einem Mittelwert von 67,4 mmol/ l über alle Behandlungen und Entnahmezeiten nicht signifikant zwischen den Enzymgruppen und der Kontrolle. Das mittlere C2:C3-Verhältnis über alle Behandlungen betrug 3,8:1 und lag somit im pansenphysiologisch normalen Bereich. Ein Behandlungseffekt konnte dabei nicht ermittelt werden.

Die Zulage von Roxazyme® führte zu keiner Beeinflussung des pH-Wertes und des Gehaltes an $\text{NH}_3\text{-N}$ im Pansensaft der Versuchstiere. Bei Betrachtung der FFS konnten vor allem im Entnahmebereich zwischen 9:00 und 11:00 Uhr tendentiell höhere Konzentrationen in Folge der Enzymzulagen beobachtet werden. Diese Tendenz konnte bei Propionsäure 180 Min nach der Fütterung (10:00 Uhr) signifikant zwischen R2 und K abgesichert werden.

Tab. 49: Mittlere Essig-, Propion- und Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Entnahmezeit im Vergleich der Enzymbehandlungen (R2 und R3) und der Kontrolle (K) (\pm SD)

Essigsäure	Behandlung			MSE	P-Wert
	K	R2	R3		
07:00	44,7 \pm 5,91	41,9 \pm 5,91	42,2 \pm 2,72	1,163	0,590
07:30	48,3 \pm 5,05	48,3 \pm 8,75	48,0 \pm 3,86	1,383	0,996
08:00	53,3 \pm 2,98	51,1 \pm 8,14	48,9 \pm 5,64	1,393	0,455
09:00	50,3 \pm 2,87	50,0 \pm 9,07	48,6 \pm 9,15	1,696	0,921
10:00	44,2 \pm 4,44	49,7 \pm 5,10	45,5 \pm 5,54	1,256	0,174
11:00	44,2 \pm 4,92	47,2 \pm 4,67	45,0 \pm 4,71	1,101	0,532
12:00	43,0 \pm 4,52	44,2 \pm 4,44	44,4 \pm 5,13	1,052	0,865
13:00	43,0 \pm 3,40	44,4 \pm 2,72	44,1 \pm 3,91	0,762	0,757
Propionsäure	K	R2	R3		
07:00	9,44 ^a \pm 1,69	8,78 ^{ab} \pm 1,42	7,65 ^b \pm 0,70	0,346	0,096
07:30	14,6 \pm 2,64	16,4 \pm 2,87	14,6 \pm 1,81	0,587	0,377
08:00	16,9 \pm 2,36	17,3 \pm 2,62	16,9 \pm 1,67	0,501	0,929
09:00	13,7 \pm 1,34	14,1 \pm 2,04	14,4 \pm 2,77	0,477	0,868
10:00	10,8 ^b \pm 1,48	13,5 ^a \pm 1,46	12,3 ^{ab} \pm 2,14	0,465	0,051
11:00	10,1 \pm 1,86	12,1 \pm 1,21	11,5 \pm 1,85	0,421	0,140
12:00	9,22 \pm 1,78	10,6 \pm 1,30	10,4 \pm 1,84	0,394	0,347
13:00	9,00 \pm 1,10	9,90 \pm 1,10	9,67 \pm 1,78	0,316	0,512
Buttersäure	K	R2	R3		
07:00	7,37 \pm 1,99	7,00 \pm 1,95	6,24 \pm 0,62	0,383	0,498
07:30	7,75 \pm 2,30	9,26 \pm 2,71	8,13 \pm 1,32	0,509	0,480
08:00	9,63 \pm 2,56	10,2 \pm 2,48	10,0 \pm 1,33	0,490	0,898
09:00	8,50 \pm 1,85	9,45 \pm 2,54	10,2 \pm 3,58	0,632	0,575
10:00	7,19 \pm 1,38	9,83 \pm 1,98	10,0 \pm 3,17	0,598	0,089
11:00	7,75 \pm 3,16	9,44 \pm 1,83	10,2 \pm 3,13	0,663	0,320
12:00	7,56 \pm 3,18	8,69 \pm 1,69	10,0 \pm 3,81	0,713	0,396
13:00	7,57 \pm 2,66	8,32 \pm 1,17	9,07 \pm 2,68	0,527	0,536

3.2.7 Einfluss auf die Bakterienpopulation im Pansen der Versuchstiere

In Versuch V2-1 wurden jeweils an den letzten beiden Tagen eines Durchganges (n=3) Pansenproben aus der festen bzw. flüssigen Phase gezogen und insgesamt sechs Bakterienarten mittels PCR analysiert. Die Entnahme fand vor der Fütterung (0 h), drei (3 h) und sieben (7 h) Stunden nach der Fütterung statt. Der Vergleich der Behandlungen K, R2 und R3 wurde in Form der relativen Expression ausgedrückt, in welcher das Verhältnis der DNA der einzelnen Bakterienarten zur gesamten bakteriellen DNA im Pansen beschrieben ist. Mit Hilfe dieser Methode konnte somit nicht der reale Anteil der Bakterien bestimmt werden, sondern lediglich relative Unterschiede innerhalb der Behandlungsvarianten. Im Folgenden erfolgt der Vergleich der Behandlungen zum einen separat für den Entnahmeort (feste bzw. flüssige Phase) bzw. die Entnahmezeit (0, 3 und 7 h) zum anderen im Mittel der Behandlungen K, R2 und R3 (MW) ohne zusätzlichen Einfluss der Entnahmezeiten und Phasen. Die Bestimmung der Bakterienpopulation wurde im Rahmen einer Diplomarbeit (ZEITZ, 2007) durchgeführt, in welcher nähere Angaben zu Methodik beschrieben sind.

In Abbildung 4 sind die Ergebnisse für das Pansenbakterium *Anaerovibrio lipolytica* dargestellt. Im Durchschnitt war der Anteil von *A. lipolytica* in der festen Phase des Pansens um 40,1 % geringer als in der flüssigen Phase, was auch statistisch abzusichern war. Des Weiteren wurde 3 h nach der Fütterung ein signifikanter Abfall des *A. lipolytica*-Anteils in der flüssigen Phase ermittelt. Für die statistische Auswertung zum Einfluss der Behandlung wurden die drei Behandlungsgruppen verglichen. Die Varianzanalyse ergab einen signifikanten Einfluss der Behandlung für *A. lipolytica*. Mit dem t-Test (Fischer LSD-Test) wurde deshalb in einem zweiten Schritt geprüft, zwischen welchen der drei Gruppen die Differenzen signifikant waren. Bei Betrachtung der Mittelwerte (MW) unterschieden sich die enzymbehandelten Gruppen R2 und R3 untereinander nicht, waren aber jeweils signifikant verschieden von der Kontrollgruppe. Der Anteil an *A. lipolytica* im Pansen war bei den Kühen mit der Enzymzulage mit der niedrigeren Dosis (R2) um 12,6 %, mit der höheren Enzymdosis (R3) um 9,3 % geringer als in der Kontrollgruppe. Bei Betrachtung des Anteils von *Fibrobacter succinogenes* im Pansen an den drei Entnahmezeitpunkten in der festen und flüssigen Phase des Pansens (Abb. 5) fallen die hohen Standardabweichungen innerhalb der drei

Behandlungsgruppen auf, was auf die stark unterschiedlichen Werte bei den Einzeltieren zurückzuführen ist. Der Anteil von *F. succinogenes*-DNA im Pansen wurde von der Enzymzulage nicht signifikant beeinflusst. Jedoch zeigte sich numerisch ein linearer Anstieg des Anteils von *F. succinogenes* im Pansen in Abhängigkeit der Enzymkonzentration. Der DNA-Anteil lag bei den Enzymbehandlungen 2,4 % (R2) bzw. 4,5 % (R3) über dem Anteil bei den Kontrolltieren. In Abbildung 6 ist die relative Expression von ***Prevotella ruminicola*** dargestellt. Die Untersuchungen ergaben, dass der Anteil an *P. ruminicola*-DNA in der festen Phase des Pansens um durchschnittlich 24,1 % geringer war als in der flüssigen Phase. Statistisch war nachzuweisen, dass der Anteil 3 h nach der Fütterung höher war als zu den anderen Zeitpunkten, was in der Grafik an den Werten der flüssigen Phase gut zu sehen ist. Der Anteil an *Prevotella ruminicola*-DNA im Pansen wurde durch die Enzymzulage nicht signifikant beeinflusst, was der Mittelwertsvergleich (MW) wiedergibt. Numerisch war der Anteil an *Prevotella ruminicola*-DNA bei Zulage der hohen Enzymdosis (R3) um 5,2 % höher als ohne die Zulage des Enzympräparates und um 7,1 % höher als bei Zulage des Enzympräparates in der niedrigeren Dosis (R2). Der Anteil an ***Ruminococcus flavefaciens*** an der gesamten Bakterien-DNA (Abb. 7) war dagegen im Durchschnitt in der festen Phase um 109,2 % höher als in der flüssigen Phase. Zu einigen Zeitpunkten (feste Phase 3 h, flüssige Phase 7 h) scheint zwar ein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen zu bestehen, auf Grund der sehr hohen Standardabweichungen und des nivellierenden Einflusses der gegenläufigen Tendenzen war ein Einfluss der Enzymzulage auf den DNA-Anteil im Pansen statistisch jedoch nicht abzusichern. Die Gegenüberstellung der Mittelwerte (MW) der drei Behandlungsgruppen verdeutlicht dies. Numerisch hingegen war der Anteil an *R. flavefaciens*-DNA im Pansen bei Zulage des Enzympräparates in der niedrigeren Dosis (R2) um 2,9 % höher als ohne Enzymzulage bzw. um 2,6 % höher als bei Zulage des Enzympräparates in der hohen Dosis. Abbildung 8 zeigt die relative Expressionen von ***Selenomonas ruminantium*** im Pansen der Versuchstiere, in welcher zu erkennen ist, dass der Anteil an *S. ruminantium*-DNA in der festen Phase um im Durchschnitt 67,1 % geringer war als in der flüssigen Phase. Der Anteil an *S. ruminantium*-DNA im Pansen veränderte sich durch die Enzymzulage nicht signifikant, was wiederum der Mittelwertsvergleich (MW) verdeutlicht. Numerisch war der Anteil an *S. ruminantium*-DNA bei den Tieren, die das Enzympräparat in der

niedrigeren Dosierung (R2) bekommen hatten, um 8,1 % geringer als bei den Tieren der Kontrollgruppe und um 13,8 % geringer als bei den Tieren mit der hohen Enzymzulage. Große Unterschiede beim DNA-Anteil von *Treponema bryantii* wurden nur zwischen den unterschiedlichen Pansenschichtungen, jedoch nicht zwischen den Behandlungen ermittelt (Abb. 9). Der Anteil der *T. bryantii*-DNA änderte sich durch die Enzymzulage nicht signifikant, war jedoch numerisch bei Einsatz der niedrigeren Enzymdosis (R2) um 8,4 % geringer als in der Kontrollgruppe und um 9,3 % geringer als bei Einsatz der hohen Enzymdosis (R3).

Bei Betrachtung des Mittelwertsvergleiches (MW) über alle Entnahmezeiten und -phasen konnte lediglich bei *A. lipolytica* ein signifikanter Einfluss der Enzymzulage ermittelt werden, was sich durch einen niedrigeren DNA-Anteil in beiden Enzymbehandlungen R2 und R3 in Bezug zur Kontrolle ausdrückte. Die hohen Standardabweichungen verdeutlichen zudem die großen Schwankungen zwischen den Einzeltieren.

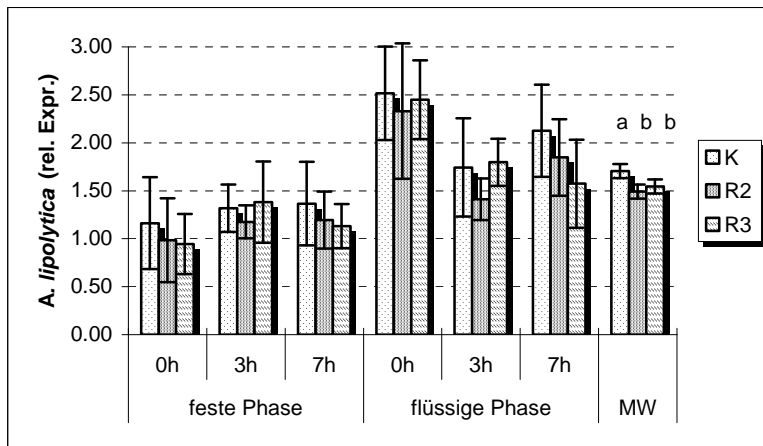


Abb. 4: Anteil von *A. lipolytica* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (\pm SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SE)

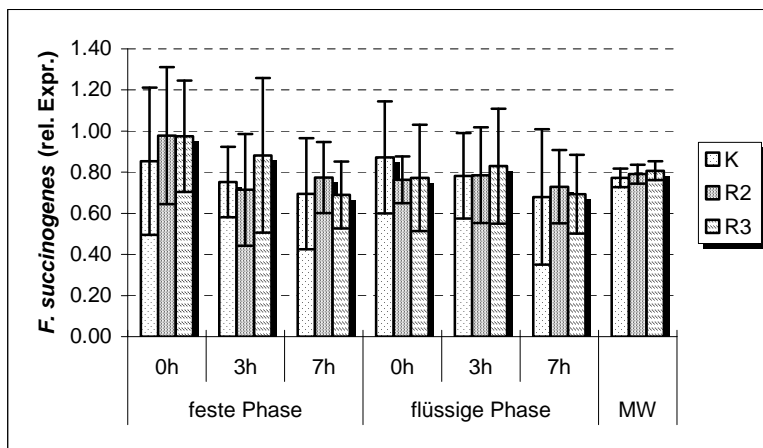


Abb. 5: Anteil *F. succinogenes* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (\pm SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SE)

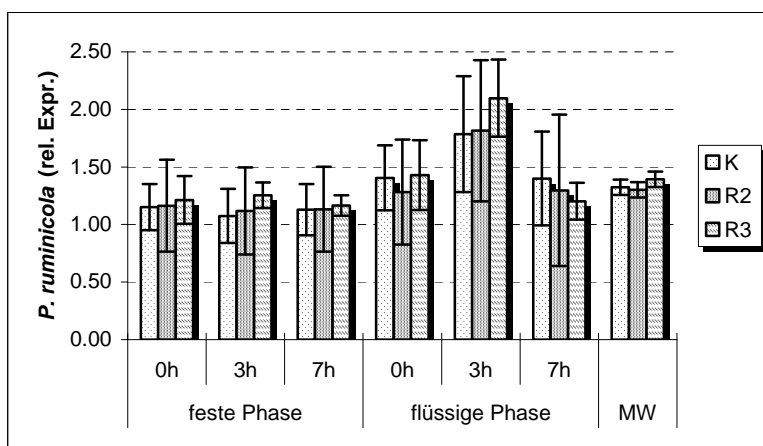


Abb. 6: Anteil von *P. ruminicola* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (\pm SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SE)

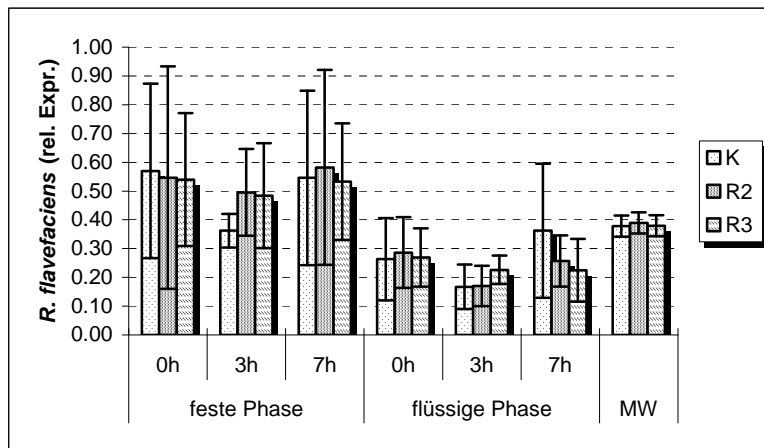


Abb. 7 Anteil von *R. flavefaciens* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (\pm SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SE)

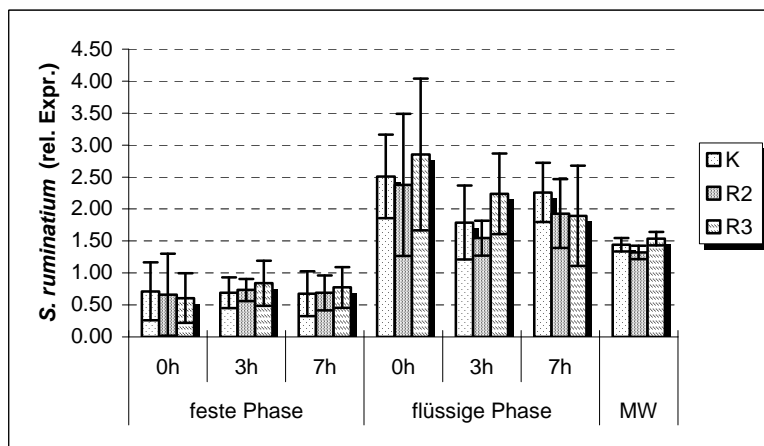


Abb. 8: Anteil von *S. ruminatum* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (\pm SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SE)

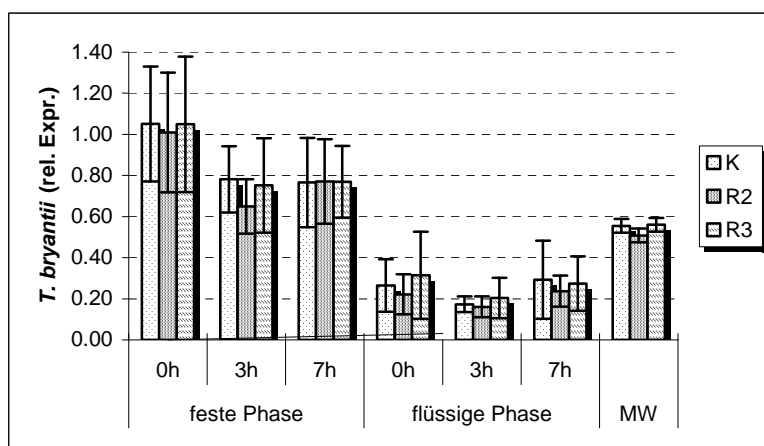


Abb. 9: Anteil von *T. bryantii* (rel. Expression) im Pansen der Versuchstiere aus V2-1 in Abhängigkeit von Entnahmeort bzw. -zeit (\pm SD) und Mittelwertsvergleich (MW) der Behandlungen K, R2 und R3 (\pm SE)

3.3 Versuchsreihe 3

Versuchsreihe 3 beinhaltete zwei Einzelversuche (Versuch V3-1 und V3-2). In Versuch V3-1 wurden die Enzyme Xylanase aus *Bacillus subtilis* (XB), Cellulase aus *Trichoderma reesei* (CT) und Xylanase aus *Pseudoalteromonas haloplanktis* (XPH) nach Zugabe in gleicher Konzentration bei je sechs Futtermittel untersucht. In Versuch V3-2 erfolgte eine weitere Betrachtung der Enzyme XB und CT, indem zusätzlich zur in V3-1 verwendeten Dosierung der Effekt zweier geringerer Konzentrationsstufen auf den T-Verlust *in sacco* bei je drei Futtermittel ermittelt wurde. Die Enzymsupplementation erfolgte in Anlehnung an Versuch V1-1 lediglich auf die inkubierten Futtermittel.

3.3.1 Versuch V3-1: Einfluss von Xylanase (*Bacillus subtilis*), Cellulase (*Trichoderma reesei*) und Xylanase (*Pseudoalteromonas haloplanktis*) auf die Abbaubarkeit verschiedener Futtermittel

In Versuch V3-1 wurden drei Kraftfuttermittel (Gerste, Biertreber, Getreideschlempe) und drei Grundfuttermittel (Maissilage, Grassilage, Heu) in Abhängigkeit der Enzymzulage im *in situ*-Versuch getestet. Die Zulage von 27,7 g/ kg T war bei allen Enzymbehandlungen (XB3, CT3 und XPH3) identisch. Auf Grund des Versuchsdesigns standen drei Wiederholungen pro Behandlung zur Verfügung. Die Auswaschverluste (0 h) wurden lediglich bei der Kontrolle ermittelt und für die Behandlungen XB3, CT3 und XPH3 übernommen.

3.3.1.1 T-Verlust *in sacco*

Krafftuttermittel Gerste, Biertreber und Getreideschlempe

In Tabelle 50 sind die T-Verluste *in sacco* der Krafftuttermittel Gerste, Biertreber und Getreideschlempe in Abhängigkeit von Inkubationszeit (0 bis 72 h) und Enzymzulage dargestellt. **Gerste** zeigte nach zweistündiger Inkubation bei XB3 einen um 7,6 % signifikant höheren T-Verlust im Vergleich zur Kontrolle. Die Behandlungen CT3 und XPH3 zeigten keine signifikante Beeinflussung und erreichten im Mittel einen T-Verlust von 62,9 %. Bei **Biertreber** hingegen konnte bis max. 8 h Inkubation ein signifikant positiver Effekt von etwa 3 % durch die Zugabe des Enzyms XB in Bezug zur Kontrolle ermittelt werden. Die Behandlungen CT3 und XPH3 unterschieden sich nicht signifikant zu K. Bei **Getreideschlempe** wurde ähnlich wie bei Gerste nur nach zweistündiger Inkubation eine signifikante Erhöhung im T-Verlust durch die Behandlung XB3 um 2,8 % in Bezug zu K analysiert. Die Zulagen von CT und XPH konnten keine signifikante Verbesserung bewirken.

Tab. 50: T-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

	Behandlung				MSE	P-Wert
	K (0 g/ kg T)	XB3 (27,7 g/ kg)	CT3 (27,7 g/ kg)	XPH3 (27,7 g/ kg)		
Gerste						
0 h*	21,4 \pm 0,05	21,4 \pm 0,05	21,4 \pm 0,05	21,4 \pm 0,05	0,027	-
2 h	59,0 ^b \pm 4,90	66,6 ^a \pm 2,94	64,6 ^{ab} \pm 3,19	61,1 ^{ab} \pm 3,55	1,283	0,128
4 h	69,5 \pm 2,86	72,9 \pm 2,86	71,1 \pm 2,02	70,8 \pm 1,69	0,698	0,435
8 h	83,8 \pm 1,62	82,9 \pm 2,33	84,0 \pm 1,15	83,1 \pm 1,53	0,442	0,840
16 h	87,0 \pm 2,15	86,8 \pm 2,07	86,7 \pm 1,04	87,1 \pm 1,64	0,441	0,991
24 h	89,1 \pm 1,51	88,7 \pm 1,30	88,8 \pm 0,36	88,2 \pm 1,70	0,340	0,856
48 h	91,1 \pm 0,54	91,2 \pm 0,23	90,7 \pm 0,45	90,9 \pm 0,48	0,125	0,468
72 h	91,7 \pm 0,52	91,6 \pm 0,40	91,7 \pm 1,18	91,4 \pm 0,56	0,183	0,952
Biertreber						
0 h	16,8 \pm 0,34	16,8 \pm 0,34	16,8 \pm 0,34	16,8 \pm 0,34	0,195	-
2 h	23,8 ^b \pm 1,52	26,7 ^a \pm 0,60	25,6 ^{ab} \pm 0,94	24,1 ^b \pm 1,09	0,440	0,039
4 h	27,3 ^b \pm 2,00	31,4 ^a \pm 2,17	29,0 ^{ab} \pm 1,62	27,7 ^{ab} \pm 1,64	0,663	0,105
8 h	40,4 ^b \pm 2,37	43,3 ^a \pm 0,77	42,3 ^{ab} \pm 1,44	40,2 ^b \pm 0,63	0,534	0,088
16 h	49,5 \pm 7,98	51,4 \pm 6,24	51,0 \pm 4,78	50,1 \pm 7,11	1,648	0,985
24 h	58,5 \pm 5,10	59,1 \pm 7,73	58,1 \pm 3,48	56,8 \pm 5,69	1,428	0,964
48 h	68,6 \pm 1,95	70,3 \pm 0,89	68,5 \pm 2,50	68,6 \pm 1,42	0,492	0,607
72 h	72,1 \pm 0,97	72,1 \pm 2,50	73,2 \pm 2,66	71,3 \pm 2,67	0,603	0,804
Getreideschlempe						
0 h	44,8 \pm 0,64	44,8 \pm 0,64	44,8 \pm 0,64	44,8 \pm 0,64	0,368	-
2 h	54,0 ^b \pm 0,49	56,8 ^a \pm 1,01	55,5 ^{ab} \pm 1,60	55,7 ^{ab} \pm 1,09	0,407	0,087
4 h	56,8 \pm 0,78	58,4 \pm 1,26	57,4 \pm 1,13	57,6 \pm 1,56	0,345	0,498
8 h	64,1 \pm 0,65	63,9 \pm 0,55	64,5 \pm 0,87	64,3 \pm 0,49	0,174	0,724
16 h	67,4 \pm 2,42	67,8 \pm 1,47	67,8 \pm 1,14	68,0 \pm 2,05	0,457	0,980
24 h	71,9 \pm 1,94	72,3 \pm 2,56	73,0 \pm 1,67	71,5 \pm 3,22	0,622	0,871
48 h	83,5 \pm 1,84	84,6 \pm 1,77	83,5 \pm 2,74	84,3 \pm 1,93	0,537	0,895
72 h	87,9 \pm 1,58	88,1 \pm 1,63	88,0 \pm 1,69	88,2 \pm 1,18	0,379	0,994

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage und Heu

Bei den untersuchten Grundfuttermitteln Maissilage, Grassilage und Heu ergaben sich insbesondere bei der Zulage von CT in den ersten acht Stunden positive Effekte auf den T-Verlust (Tab. 51). Bei **Maissilage** wurden signifikante Erhöhungen von im Mittel 2,4 % (zu K, XB3 und XPH3, 2h), 2,7 % (zu K und XPH3, 4h) und 4,1 % (zu XPH3, 8 h) ermittelt. Zudem zeigte sich nach achtstündiger Inkubation eine signifikante Steigerung von 3,8 % bei XB3 gegenüber XPH3. Die Zulage von CT bewirkte bei **Grassilage** mit Ausnahme zu XB3 (4 h) durchweg signifikante Steigerungen zu den übrigen Behandlungen. Die Unterschiede betragen im Mittel 1,6 % (2 h), 2,4 % (4 h) und 3,7 % (8 h). Nach zweistündiger Inkubation war zudem ein positiver Effekt durch die XB-Zulage in Bezug zu K um 0,6 % zu beobachten. Bei **Heu** wurden neben der Behandlung CT3 verstärkt auch positive Effekte der Behandlung XB3 festgestellt. Während bei CT3 nach 2 und 4 h Inkubation eine signifikante Erhöhung jeweils von etwa 1 % gegenüber K beobachtet werden konnte, zeigte sich eine signifikante Steigerung durch die Zulage von XB lediglich nach vierstündiger Inkubationsdauer. Nach 8 h Inkubation konnten die Verbesserungen dieser beiden Behandlungen lediglich zu XPH3 statistisch untermauert werden, welche im Mittel 2,2 % betragen.

Tab. 51: T-Verluste (%) von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-1 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Enzymzulage (\pm SD)

Maissilage	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB3	CT3	XP3		
0 h*	43,6 \pm 0,07	43,6 \pm 0,07	43,6 \pm 0,07	43,6 \pm 0,07	0,040	-
2 h	42,9 ^b \pm 0,98	43,4 ^b \pm 1,06	45,3 ^a \pm 0,75	42,4 ^b \pm 0,33	0,388	0,013
4 h	44,1 ^b \pm 1,70	44,9 ^{ab} \pm 0,81	46,7 ^a \pm 1,06	44,0 ^b \pm 1,15	0,448	0,081
8 h	51,2 ^{ab} \pm 2,78	53,4 ^a \pm 1,91	53,7 ^a \pm 0,73	49,6 ^b \pm 0,91	0,672	0,067
16 h	55,9 \pm 5,34	58,1 \pm 5,09	58,2 \pm 5,20	58,2 \pm 5,01	1,305	0,928
24 h	65,5 \pm 7,63	65,6 \pm 0,91	66,1 \pm 4,92	63,5 \pm 1,92	1,187	0,902
48 h	77,5 \pm 1,06	77,5 \pm 1,20	77,8 \pm 0,59	77,2 \pm 0,96	0,249	0,907
72 h	81,3 \pm 0,23	81,1 \pm 0,52	81,3 \pm 0,54	81,5 \pm 0,54	0,122	0,874
Grassilage	K	XB3	CT3	XP3	MSE	P-Wert
0 h	48,1 \pm 0,26	48,1 \pm 0,26	48,1 \pm 0,26	48,1 \pm 0,26	0,148	-
2 h	49,0 ^c \pm 0,58	49,6 ^b \pm 0,14	50,9 ^a \pm 0,03	49,2 ^{bc} \pm 0,04	0,236	< 0,001
4 h	51,1 ^b \pm 0,95	51,9 ^{ab} \pm 0,73	53,5 ^a \pm 1,19	51,1 ^b \pm 0,97	0,380	0,052
8 h	59,6 ^b \pm 1,18	59,6 ^b \pm 1,20	63,3 ^a \pm 1,93	59,7 ^b \pm 0,87	0,583	0,024
16 h	68,9 \pm 1,79	71,5 \pm 4,55	71,1 \pm 4,61	69,4 \pm 4,64	1,058	0,834
24 h	78,2 \pm 2,92	79,0 \pm 2,97	79,3 \pm 1,25	76,5 \pm 0,80	0,636	0,454
48 h	85,6 \pm 0,93	85,9 \pm 0,29	86,3 \pm 0,39	86,4 \pm 0,29	0,163	0,343
72 h	88,1 \pm 0,28	88,3 \pm 0,11	88,5 \pm 0,35	88,5 \pm 0,25	0,078	0,355
Heu	K	XB3	CT3	XP3	MSE	P-Wert
0 h	21,3 \pm 0,23	21,3 \pm 0,23	21,3 \pm 0,23	21,3 \pm 0,23	0,134	-
2 h	23,1 ^{bc} \pm 0,15	23,7 ^{ab} \pm 0,26	24,0 ^a \pm 0,45	23,0 ^c \pm 0,44	0,148	0,027
4 h	25,1 ^b \pm 0,28	25,9 ^a \pm 0,17	26,3 ^a \pm 0,24	25,0 ^b \pm 0,27	0,174	0,001
8 h	34,2 ^{ab} \pm 1,04	35,1 ^a \pm 0,70	35,8 ^a \pm 0,28	33,3 ^b \pm 1,11	0,354	0,031
16 h	49,2 \pm 3,88	49,4 \pm 6,18	48,1 \pm 5,57	47,4 \pm 6,00	1,371	0,966
24 h	59,8 \pm 3,63	60,9 \pm 2,64	61,6 \pm 1,70	58,7 \pm 0,93	0,686	0,526
48 h	72,3 \pm 0,74	72,1 \pm 0,40	72,3 \pm 0,63	72,4 \pm 0,49	0,146	0,921
72 h	76,7 \pm 0,09	76,7 \pm 0,60	77,1 \pm 0,48	76,6 \pm 0,11	0,112	0,457

*Nullvarianten (0 h) wurden nur für die Kontrolle ermittelt und für die restlichen Behandlungen übernommen

Bei Betrachtung des T-Verlustes *in sacco* der untersuchten Futtermittel wurden signifikante Verbesserungen in Folge von Enzymzulagen beobachtet. Dabei konnten bei den Kraftfuttermitteln Gerste, Biertreber und Getreideschlempe insbesondere durch die Zulage von XB, bei den Grundfuttermitteln Maissilage, Grassilage und Heu vor allem durch die Zulage von CT signifikante Steigerungen erzielt werden. Die Behandlung der Grundfuttermittel mit XB bewirkte zudem positive Effekte, welche jedoch geringer als bei CT3 einzustufen sind. Eine Wirkung der Enzyme auf den T-Verlust war auf maximal acht Inkubationsstunden begrenzt. Bei Gerste und Getreideschlempe konnten lediglich nach 2 h Inkubation signifikante Behandlungseffekte beobachtet werden. Die Applikation von XPH zeigte sich dagegen als nicht effektiv.

3.3.1.2 Parameter der potentiellen Abbaubarkeit

Kraftfuttermittel Gerste, Biertreber und Getreideschlempe

Für eine nähere Einschätzung der Wirkungsweise der Enzyme auf die einzelnen Futtermittel wurde ein Vergleich der ermittelten Fraktionen a, b, c, d und lag time in Abhängigkeit der Behandlung durchgeführt. Tabelle 52 gibt die *in sacco*-Parameter für Gerste, Biertreber und Getreideschlempe wieder. Bei **Gerste** konnte durch die Zulage von XB3 eine signifikante Erhöhung der Fraktion c (Abbaurrate von b) um 11,4 %/ h zu K ermittelt werden. **Biertreber** hingegen zeigte keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Parameter der potentiellen Abbaubarkeit zwischen den einzelnen Behandlungen. Jedoch konnte eine numerische Erhöhung der schnell abbaubaren Fraktion a durch die XB-Zulage um 1,7 % zu K festgestellt werden. Diese Beeinflussung der Fraktion a bei der Behandlung XB3 zeigte sich auch bei **Getreideschlempe**, welche mit einer Differenz von 1,3 % zu K signifikant abgesichert werden konnte. Die restlichen Parameter der Kraftfuttermittel zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungen.

Tab. 52: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t₀ von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (± SD)

Gerste	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB3	CT3	XPH3		
a (%)	22,4 ± 0,52	22,5 ± 0,29	22,6 ± 0,15	22,4 ± 0,13	0,080	0,857
b (%)	67,1 ± 0,76	66,0 ± 0,99	66,1 ± 0,62	66,4 ± 0,74	0,233	0,371
c (% h ⁻¹)	34,2 ^b ± 3,28	45,6 ^a ± 6,32	41,4 ^{ab} ± 5,33	37,2 ^{ab} ± 3,61	1,754	0,083
d (%)	89,4 ± 0,79	88,4 ± 0,73	88,7 ± 0,54	88,8 ± 0,84	0,212	0,442
t ₀ (h)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000	-
Biertreber	K	XB3	CT3	XPH3	MSE	P-Wert
a (%)	17,3 ± 0,62	19,0 ± 1,46	18,3 ± 0,52	17,5 ± 0,81	0,306	0,177
b (%)	55,8 ± 0,80	53,6 ± 2,37	54,2 ± 2,60	54,6 ± 1,71	0,550	0,591
c (% h ⁻¹)	5,95 ± 1,82	6,42 ± 1,51	6,00 ± 0,68	5,81 ± 1,22	0,345	0,953
d (%)	73,1 ± 1,39	72,5 ± 0,93	72,6 ± 2,12	72,1 ± 0,93	0,367	0,855
t ₀ (h)	0,08 ± 0,14	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,020	0,441
Getreideschlempe	K	XB3	CT3	XPH3	MSE	P-Wert
a (%)	48,9 ^b ± 0,47	50,2 ^a ± 0,44	49,4 ^{ab} ± 0,51	49,8 ^{ab} ± 0,44	0,180	0,054
b (%)	40,0 ± 1,33	39,5 ± 0,85	39,0 ± 2,48	40,2 ± 0,44	0,390	0,780
c (% h ⁻¹)	4,22 ± 0,44	4,11 ± 0,45	4,50 ± 0,32	4,06 ± 0,76	0,138	0,732
d (%)	89,0 ± 0,94	89,7 ± 1,10	88,5 ± 2,83	89,9 ± 0,43	0,432	0,671
t ₀ (h)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,000	-

a = lösliche Fraktion, b = unlösliche, abbaubare Fraktion, c = Abbaurrate von b, d = (a + b) = potentiell abbaubare Fraktion,
t₀ = lag time = Verzögerungszeit bis Abbaubeginn

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage und Heu

Bei Betrachtung des Einflusses der Enzymzulagen auf die Parameter der potentiellen Abbaubarkeit der Grundfuttermittel konnten lediglich signifikante Unterschiede bei **Maissilage** beobachtet werden (Tab. 53). Dabei zeigte sich eine signifikante Erhöhung um 0,6 % der Fraktion a bei CT3 im Vergleich zu XPH3. Weiterhin ergaben sich signifikante Unterschiede in der lag time (t_0), welche durch die Zulage von CT signifikant um im Mittel 2,5 h zu K und XPH3 verringert wurde. Eine Verringerung der lag time durch CT konnte auch bei **Grassilage** und **Heu** beobachtet werden, was jedoch nicht statistisch abzusichern war. Es ergaben sich mittlere Differenzen zu den restlichen Behandlungen von 1,5 h (Grassilage) bzw. 0,8 h (Heu). Die Parameter b, c und d wurden bei keinem Futtermittel beeinflusst.

Tab. 53: Parameter der potentiellen Abbaubarkeit a, b, c, d und t_0 von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (\pm SD)

Maissilage	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB3	CT3	XPH3		
a (%)	43,3 ^{ab} \pm 0,51	43,4 ^{ab} \pm 0,32	43,6 ^a \pm 0,00	43,0 ^b \pm 0,16	0,102	0,183
b (%)	45,2 \pm 10,4	42,0 \pm 2,56	44,8 \pm 7,61	44,0 \pm 3,68	1,724	0,939
c (% h ⁻¹)	3,85 \pm 1,88	3,55 \pm 0,69	3,30 \pm 1,31	3,33 \pm 0,82	0,318	0,944
d (%)	88,5 \pm 9,95	85,4 \pm 2,24	88,4 \pm 7,61	87,0 \pm 3,65	1,674	0,928
t_0 (h)	3,87 ^a \pm 1,83	2,17 ^{ab} \pm 0,53	1,12 ^b \pm 0,34	3,31 ^a \pm 0,65	0,406	0,044
Grassilage	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB3	CT3	XPH3		
a (%)	48,4 \pm 0,36	48,6 \pm 0,43	48,1 \pm 0,00	48,3 \pm 0,34	0,097	0,377
b (%)	40,6 \pm 1,08	40,5 \pm 2,38	41,1 \pm 1,08	41,6 \pm 1,40	0,412	0,798
c (% h ⁻¹)	5,84 \pm 1,06	6,63 \pm 2,10	6,05 \pm 1,38	5,31 \pm 0,96	0,383	0,740
d (%)	89,0 \pm 0,84	89,0 \pm 1,95	89,2 \pm 1,08	89,9 \pm 1,17	0,345	0,815
t_0 (h)	2,61 \pm 1,06	2,61 \pm 1,11	1,02 \pm 0,45	2,22 \pm 0,78	0,295	0,170
Heu	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB3	CT3	XPH3		
a (%)	21,9 \pm 0,54	21,3 \pm 0,00	21,3 \pm 0,00	21,8 \pm 0,47	0,123	0,128
b (%)	56,9 \pm 2,85	57,9 \pm 2,24	58,3 \pm 1,95	57,8 \pm 2,34	0,605	0,890
c (% h ⁻¹)	5,13 \pm 1,19	4,88 \pm 1,07	4,72 \pm 0,82	4,66 \pm 1,00	0,259	0,944
d (%)	78,8 \pm 2,32	79,2 \pm 2,24	79,6 \pm 1,95	79,6 \pm 2,18	0,547	0,953
t_0 (h)	2,78 \pm 1,02	1,74 \pm 0,25	1,60 \pm 0,10	2,76 \pm 0,87	0,236	0,126

Der Vergleich der *in sacco*-Parameter zeigte in Abhängigkeit der Behandlung futtermittelspezifische Effekte. Die Zulage von XB bewirkte bei Gerste eine Erhöhung der Abbaurrate *c*, wohingegen bei Getreideschlempe die schnell abbaubare bzw. lösliche Fraktion *a* positiv beeinflusst wurde, was numerisch auch bei Biertreber festzustellen war. Bei Maissilage konnte durch die Zulage von CT neben einer Erhöhung der Fraktion *a* auch eine Verringerung der lag time beobachtet werden, welche tendenziell auch bei Grassilage und Heu ermittelt wurde.

3.3.1.3 Effektive ruminale Abbaubarkeit

Kraftfuttermittel Gerste, Biertreber und Getreideschlempe

Die effektiven Abbaubarkeiten von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe sind in Tabelle 54 aufgeführt. Die Enzymzulagen zeigten keine signifikanten Effekte. Es wurden im Mittel aller Behandlungen effektive T-Abbaubarkeiten von 77,5 ($k=0,08$) bis 85,6 ($k=0,02$) % bei **Gerste**, 41,2 ($k=0,08$) bis 58,7 ($k=0,02$) % bei **Biertreber** und 63,3 ($k=0,08$) bis 76,4 ($k=0,02$) % bei **Getreideschlempe** berechnet.

Tab. 54: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-1 in Abhängigkeit von Passagerate (*k*) und Enzymzulage (\pm SD)

Gerste	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB3	CT3	XPH3		
k=0,02	85,7 \pm 1,07	85,6 \pm 1,01	85,6 \pm 0,47	85,4 \pm 1,11	0,237	0,982
k=0,04	82,4 \pm 1,29	83,1 \pm 1,25	82,8 \pm 0,61	82,4 \pm 1,33	0,300	0,843
k=0,06	79,4 \pm 1,47	80,7 \pm 1,46	80,3 \pm 0,80	79,6 \pm 1,51	0,368	0,618
k=0,08	76,7 \pm 1,62	78,5 \pm 1,64	77,9 \pm 0,99	77,0 \pm 1,65	0,429	0,468
Biertreber	K	XB3	CT3	XPH3	MSE	P-Wert
k=0,02	58,3 \pm 2,50	59,6 \pm 2,77	59,0 \pm 2,22	57,9 \pm 2,84	0,667	0,862
k=0,04	49,7 \pm 3,31	51,7 \pm 3,14	50,8 \pm 2,14	49,6 \pm 3,15	0,776	0,800
k=0,06	44,2 \pm 3,43	46,5 \pm 3,06	45,4 \pm 1,96	44,2 \pm 3,03	0,773	0,749
k=0,08	40,3 \pm 3,30	42,7 \pm 2,84	41,6 \pm 1,78	40,4 \pm 2,80	0,735	0,694
Getreideschlempe	K	XB3	CT3	XPH3	MSE	P-Wert
k=0,02	76,1 \pm 1,42	76,7 \pm 1,47	76,4 \pm 1,57	76,5 \pm 1,47	0,373	0,956
k=0,04	69,5 \pm 1,33	70,2 \pm 1,44	70,1 \pm 1,15	69,9 \pm 1,71	0,359	0,932
k=0,06	65,5 \pm 1,16	66,2 \pm 1,31	66,1 \pm 0,95	65,9 \pm 1,65	0,331	0,888
k=0,08	62,8 \pm 1,00	63,6 \pm 1,20	63,4 \pm 0,85	63,2 \pm 1,52	0,303	0,834

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage und Heu

Tabelle 55 gibt die effektiven T-Abbaubarkeiten von Maissilage, Grassilage und Heu wieder. Bei **Maissilage** konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Behandlungen ermittelt werden. Numerisch zeigten die Behandlungen XB3 und CT3 jedoch höhere effektive Abbaubarkeiten, was mittlere Differenzen von etwa 2 % zu K und XPH3 verdeutlichen. Dagegen konnte bei **Grassilage** ein eindeutig signifikant positiver Effekt durch die Zulage von CT festgestellt werden. So wurden mit Ausnahme zu XPH3 ($k=0,02$) bei allen angenommenen Passageraten die signifikant besten Abbaubarkeiten mit mittleren Differenzen von 1,8 ($k=0,02$), 3,0 ($k=0,04/0,06$) und 2,8 ($k=0,08$) % zu den restlichen drei Behandlungen bei CT3 beobachtet. Signifikante Verbesserungen konnten bei **Heu** neben der CT-Zulage auch bei der Behandlung XB3 berechnet werden. Bei Passageraten von 2 und 4 %/h ergaben sich mittlere Verbesserungen zu K von 1,4 und 2,2 %, wohingegen bei $k=0,08$ lediglich ein signifikanter Unterschied zu XPH3 mit im Mittel 2,1 % ermittelt werden konnte. Bei einer Passagerate von 6 %/h wurden signifikante Veränderungen bei CT3 zu K und XPH3 mit 2,2 % und bei XB3 zu XPH3 mit 2,0 % festgestellt.

Tab. 55: Effektive T-Abbaubarkeiten (%) von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-1 in Abhängigkeit von Passagerate (k) und Enzymzulage (\pm SD)

Maissilage	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB3	CT3	XPH3		
k=0,02	68,5 \pm 1,33	69,2 \pm 0,51	69,7 \pm 0,62	69,0 \pm 0,22	0,234	0,354
k=0,04	58,0 \pm 2,49	60,0 \pm 1,52	61,2 \pm 1,89	58,5 \pm 1,37	0,600	0,212
k=0,06	54,1 \pm 2,53	56,0 \pm 1,60	57,1 \pm 2,01	54,4 \pm 1,44	0,604	0,264
k=0,08	51,6 \pm 2,41	53,4 \pm 1,56	54,5 \pm 1,91	51,8 \pm 1,37	0,579	0,258
Grassilage	K	XB3	CT3	XPH3	MSE	P-Wert
k=0,02	75,4 ^b \pm 0,87	75,2 ^b \pm 1,23	77,4 ^a \pm 0,45	76,1 ^{ab} \pm 0,59	0,330	0,048
k=0,04	66,8 ^b \pm 1,19	67,0 ^b \pm 0,99	70,1 ^a \pm 0,78	67,4 ^b \pm 0,95	0,474	0,011
k=0,06	62,9 ^b \pm 0,94	63,2 ^b \pm 0,56	66,1 ^a \pm 0,94	63,3 ^b \pm 0,86	0,438	0,006
k=0,08	60,1 ^b \pm 0,83	60,5 ^b \pm 0,40	63,2 ^a \pm 0,95	60,5 ^b \pm 0,80	0,415	0,005
Heu	K	XB3	CT3	XPH3	MSE	P-Wert
k=0,02	58,7 ^c \pm 0,64	59,9 ^{ab} \pm 0,32	60,3 ^a \pm 0,37	59,0 ^{bc} \pm 0,79	0,237	0,030
k=0,04	46,2 ^b \pm 0,75	48,2 ^a \pm 0,82	48,5 ^a \pm 0,92	46,0 ^b \pm 1,34	0,419	0,027
k=0,06	40,7 ^{bc} \pm 0,38	42,4 ^{ab} \pm 1,03	42,7 ^a \pm 1,07	40,4 ^c \pm 1,24	0,393	0,042
k=0,08	36,9 ^{ab} \pm 0,26	38,5 ^a \pm 1,02	38,8 ^a \pm 1,06	36,6 ^b \pm 1,15	0,367	0,050

Bei Betrachtung der effektiven T-Abbaubarkeiten der untersuchten Futtermittel konnte bei Gerste, Biertreber und Getreideschlempe keine Beeinflussung durch die Enzymzulagen beobachtet werden. Dagegen wirkte sich insbesondere bei Grassilage und Heu die Zulage von CT signifikant positiv aus. Ein Effekt wurde zudem bei Heu durch die Zulage von XB ermittelt. Signifikante Unterschiede zeigten sich bereits ab der niedrigsten Passagerate. Bei Maissilage wurden numerisch erhöhte Abbaubarkeiten bei den Behandlungen XB3 und CT3 gegenüber der Kontrolle beobachtet.

3.3.1.4 NDF-Verlust

Zur näheren Einschätzung des Wirkungsortes der Enzyme wurden neben dem T-Verlust *in sacco* zusätzlich der NDF-Verlust nach vierstündiger Inkubation ermittelt (Tab. 56). Bei **Gerste** zeigte sich zwischen XB3 und CT3 ein signifikanter Unterschied von 5,3 %, während gegenüber der Kontrolle kein signifikanter Behandlungseffekt festgestellt wurde. Die Behandlung von **Biertreber** mit XB führte zu einem signifikant höheren NDF-Verlust um im Mittel 4,1 % zu den restlichen Behandlungen, wohingegen bei **Getreideschlempe** keine Differenzen zwischen den Behandlungen festgestellt wurden. Bei **Maissilage** und **Grassilage** konnten signifikante Unterschiede zwischen CT3 zu K von 3,7 und 4,9 % berechnet werden. Die Applikation mit XB führte zu keiner signifikanten Beeinflussung. Bei **Heu** zeigten sowohl die Zulage von CT als auch von XB signifikant positive Effekte auf den NDF-Verlust, was die Differenz von im Mittel 1,5 % zu K bekräftigt.

Tab. 56: NDF-Verluste (%) der in V3-1 untersuchten Futtermittel nach 4 h Inkubationszeit bei den Behandlungen K, XB3, CT3 und XPH3 (\pm SD)

	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB3	CT3	XPH3		
Gerste	18,4 ^{ab} \pm 2,45	21,2 ^a \pm 2,08	15,9 ^b \pm 1,49	18,5 ^{ab} \pm 2,67	0,786	0,103
Biertreber	9,82 ^b \pm 1,46	15,3 ^a \pm 0,40	11,5 ^b \pm 1,85	12,2 ^b \pm 2,13	0,714	0,018
Getreideschlempe	28,3 \pm 1,13	29,6 \pm 1,93	29,0 \pm 2,27	28,5 \pm 2,67	0,531	0,893
Maissilage	0,13 ^b \pm 1,87	1,04 ^{ab} \pm 1,22	3,87 ^a \pm 1,79	0,68 ^b \pm 1,10	0,577	0,067
Grassilage	8,70 ^b \pm 1,76	11,5 ^{ab} \pm 1,07	13,6 ^a \pm 1,63	9,19 ^b \pm 2,07	0,716	0,025
Heu	5,55 ^b \pm 1,03	7,14 ^a \pm 0,70	6,94 ^a \pm 0,22	4,19 ^b \pm 0,73	0,401	0,004

Die Zulage von XB führte zu signifikant höheren NDF-Verlusten bei Gerste und Biertreber. Dagegen zeigte sich bei den Silagen das Enzym CT am effektivsten. Heu wurde im NDF-Verlust nach vierstündiger Inkubation sowohl durch die CT- als auch durch die XB-Zulage signifikant positiv beeinflusst. Bei Getreideschlempe wurden keine Behandlungsunterschiede festgestellt.

3.3.2 Versuch 3-2: Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen von Xylanase (*Bacillus subtilis*) und Cellulase (*Trichoderma reesei*) auf den T-Verlust *in sacco* verschiedener Futtermittel

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus Versuch V3-1 wurden neben der in Versuch V3-1 eingesetzten Dosierung (27,7 g/ kg T) der Effekt der Enzyme Xylanase aus *Bacillus subtilis* (XB) und Cellulase aus *Trichoderma reesei* (CT) genauer betrachtet. Dazu wurden die Enzyme in zwei weiteren Konzentrationsstufen (6,92 g/ kg T und 13,8 g/ kg T) auf den T-Verlust von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe (XB) bzw. Maissilage, Grassilage und Heu (CT) untersucht. Auf Grund der zeitlich begrenzten Wirkung der Enzyme aus Versuch V3-1 wurde der Enzymeinfluss bis einschließlich 16 h Inkubation festgestellt. Zusätzlich wurden die Auswaschverluste (0 h) bei jeder Behandlung ermittelt. Der Versuch wurde in Anlehnung an Versuch V3-1, jedoch mit einer nur fünftägigen Messperiode, durchgeführt.

3.3.2.1 T-Verlust *in sacco*

Kraftfuttermittel Gerste, Biertreber und Getreideschlempe unter Zulage von Xylanase (*Bacillus subtilis*)

In Tabelle 57 sind die T-Verluste von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe unter Zufuhr der drei Xylanasekonzentrationen (XB1, XB2 und XB3) im Vergleich zur Kontrolle (K) dargestellt. Bei **Gerste** konnte lediglich in den Auswaschverlusten ein signifikanter Effekt von XB ermittelt werden. Es zeigte sich bereits bei der niedrigsten Konzentration eine signifikante Verbesserung in Bezug zu K um 2,9 %, welche durch eine Erhöhung der Dosierung nicht mehr signifikant verstärkt werden konnte. Dieser positive Effekt bereits bei der niedrigen Enzymzulage XB1 wurde auch bei **Biertreber** ermittelt. Hier war die Wirkung auf die zweistündige Inkubationsdauer beschränkt. Es ergab sich eine Steigerung von 2,7 % gegenüber K. Bei Betrachtung der T-Verluste nach 4 bzw. 8 h Inkubation konnten zudem bei beiden Futtermitteln numerische Erhöhungen durch die Enzymzulage beobachtet werden. Dagegen zeigte **Getreideschlempe** sowohl bei den Auswaschverlusten (0 h) als auch nach zweistündiger Panseninkubation signifikante Veränderungen im T-Verlust. Es ergaben sich Steigerungen bei XB1 zu K von 1,2 % (0h) und 1,8 % (2 h). Weitere Konzentrationserhöhungen wiesen keine signifikanten Zusatzeffekte auf. Ab 4 h

Inkubationsdauer wurden zudem keine gerichteten Unterschiede zwischen den Behandlungen festgestellt.

Tab. 57: T-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Xylanasezulage (\pm SD)

Gerste	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB1	XB2	XB3		
	(0 g/ kg T)	(6,92 g/ kg T)	(13,8 g/ kg T)	(27,7 g/ kg T)		
0 h	18,4 ^b \pm 1,18	21,3 ^a \pm 0,91	20,7 ^a \pm 1,38	22,5 ^a \pm 0,65	0,513	0,010
2 h	60,6 \pm 4,87	61,6 \pm 1,54	63,2 \pm 3,21	64,0 \pm 2,30	0,887	0,602
4 h	70,4 \pm 4,10	72,8 \pm 2,27	74,5 \pm 2,05	73,8 \pm 4,19	0,940	0,486
8 h	81,7 \pm 2,45	79,9 \pm 1,38	82,0 \pm 0,44	80,5 \pm 1,12	0,457	0,356
16 h	87,3 \pm 0,72	86,6 \pm 1,51	86,8 \pm 1,13	86,3 \pm 0,94	0,291	0,779
Biertreber	K	XB1	XB2	XB3	MSE	P-Wert
0 h	17,1 \pm 0,18	16,8 \pm 0,06	17,7 \pm 0,90	18,0 \pm 1,01	0,222	0,192
2 h	22,2 ^b \pm 1,42	24,9 ^a \pm 0,61	25,9 ^a \pm 0,62	25,8 ^a \pm 0,80	0,508	0,004
4 h	28,5 \pm 2,42	30,3 \pm 1,28	31,1 \pm 1,02	31,3 \pm 2,34	0,567	0,319
8 h	37,7 \pm 5,87	35,9 \pm 4,09	41,8 \pm 0,75	41,4 \pm 0,27	1,158	0,210
16 h	51,3 \pm 4,12	51,0 \pm 1,84	51,6 \pm 3,56	51,2 \pm 5,02	0,942	0,997
Getreideschlempe	K	XB1	XB2	XB3	MSE	P-Wert
0 h	46,8 ^b \pm 0,11	48,0 ^a \pm 0,79	47,1 ^{ab} \pm 0,65	47,3 ^{ab} \pm 0,28	0,189	0,102
2 h	54,4 ^b \pm 1,17	56,2 ^a \pm 0,71	56,4 ^a \pm 0,70	55,9 ^{ab} \pm 0,80	0,320	0,076
4 h	58,9 \pm 1,00	59,4 \pm 0,37	59,9 \pm 1,11	58,9 \pm 1,98	0,333	0,727
8 h	63,1 \pm 1,89	62,3 \pm 0,99	64,2 \pm 1,13	62,9 \pm 1,33	0,397	0,447
16 h	68,6 \pm 1,50	68,7 \pm 1,26	68,7 \pm 0,95	68,1 \pm 0,88	0,298	0,920

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage und Heu unter Zulage von Cellulase (*Trichoderma reesei*)

Bei Betrachtung der T-Verluste der untersuchten Grundfuttermittel (Tab. 58) bei unterschiedlicher Cellulasezulage (CT) zeigte sich bei **Maissilage** eine lineare Erhöhung in Abhängigkeit der Konzentration. Signifikante Unterschiede nach 0 und 4 h Inkubation zu K wurden bei den Behandlungen CT2 und CT3 mit Differenzen von etwa 1,5 % (CT2) bzw. 2,5 % (CT3) ermittelt. Zudem waren in diesem Bereich die Behandlungen CT2 und CT3 selbst signifikant verschieden. Nach zweistündiger

Inkubationsdauer konnte lediglich bei der hohen Enzymzulage CT3 ein signifikanter Effekt auf den T-Verlust mit einer Erhöhung zu K um 2,6 % festgestellt werden. Bei **Grassilage** und **Heu** war die Enzymwirkung auf die ersten zwei Stunden begrenzt. Es wurden bereits bei einer Konzentration von 13,8 g/ kg T (CT2) signifikante Unterschiede zu K ermittelt, welche durch eine weitere Dosiserhöhung nicht verstärkt werden konnten. Die Differenzen zu K betragen nach 0 h Inkubation 0,7 % (Grassilage) bzw. 0,5 % (Heu), nach zweistündiger Inkubation 1,2 % (Grassilage). Bei Heu (2 h) konnte die Steigerung nur bei der hohen Dosierung CT3 zu K mit 0,8 % statistisch abgesichert werden.

Tab. 58: T-Verluste (%) von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-2 in Abhängigkeit von Inkubationszeit und Cellulasezulage (\pm SD)

	Behandlung				MSE	P-Wert
	K (0 g/ kg T)	CT1 (6,92 g/ kg T)	CT2 (13,8 g/ kg T)	CT3 (27,7 g/ kg T)		
Maissilage						
0 h	47,7 ^c \pm 0,25	48,1 ^{bc} \pm 0,39	48,7 ^b \pm 0,24	49,7 ^a \pm 0,37	0,236	< 0,001
2 h	45,9 ^b \pm 0,79	46,4 ^b \pm 1,20	47,6 ^{ab} \pm 0,95	48,5 ^a \pm 0,97	0,396	0,041
4 h	47,2 ^c \pm 0,67	47,9 ^c \pm 0,12	49,0 ^b \pm 0,36	50,0 ^a \pm 0,23	0,334	< 0,001
8 h	50,7 \pm 2,99	50,9 \pm 2,71	52,9 \pm 1,78	53,1 \pm 2,21	0,693	0,522
16 h	60,3 \pm 2,98	61,8 \pm 0,77	61,0 \pm 0,91	60,8 \pm 2,35	0,513	0,847
Grassilage						
0 h	47,7 ^b \pm 0,44	47,8 ^b \pm 0,29	48,4 ^a \pm 0,12	48,5 ^a \pm 0,11	0,130	0,012
2 h	48,4 ^b \pm 0,37	48,6 ^b \pm 0,27	49,6 ^a \pm 0,49	49,7 ^a \pm 0,16	0,196	0,003
4 h	51,4 \pm 1,18	52,2 \pm 1,00	52,0 \pm 1,37	53,1 \pm 1,08	0,340	0,418
8 h	58,9 \pm 1,48	60,7 \pm 3,91	61,4 \pm 2,76	62,1 \pm 1,79	0,743	0,540
16 h	72,4 \pm 2,34	71,9 \pm 3,43	72,7 \pm 1,65	71,6 \pm 3,09	0,682	0,955
Heu						
0 h	21,4 ^b \pm 0,09	21,4 ^b \pm 0,07	21,9 ^a \pm 0,11	21,8 ^a \pm 0,17	0,066	0,003
2 h	23,2 ^b \pm 0,11	23,2 ^b \pm 0,38	23,6 ^{ab} \pm 0,28	24,0 ^a \pm 0,11	0,113	0,016
4 h	26,1 \pm 0,48	25,9 \pm 0,48	26,4 \pm 0,73	26,7 \pm 0,39	0,161	0,339
8 h	33,2 \pm 2,48	33,3 \pm 3,91	34,2 \pm 2,70	34,5 \pm 0,79	0,687	0,916
16 h	50,9 \pm 3,05	50,5 \pm 1,38	50,9 \pm 2,24	51,5 \pm 1,74	0,552	0,944

Beim Einsatz der Xylanase (XB) zeigten sich signifikant positive Effekte auf den T-Verlust der Krafftuttermittel bis max. 2 h Inkubationsdauer. Zudem wurden bereits bei der niedrigsten Dosierung (6,92 g/ kg T) signifikant positive Effekte festgestellt, welche durch weitere Konzentrationssteigerungen (13,8 bzw. 27,7 g/ kg T) nicht mehr verstärkt werden konnten. Dagegen wurden bei der Cellulase (CT) eindeutige Konzentrationseffekte beobachtet. Eine signifikant positive Erhöhung des T-Verlustes bei den Grundfuttermitteln beschränkte sich auf eine Inkubationsdauer bis max. 4 h. Bei Maissilage zeigte sich ein linearer Anstieg im T-Verlust in Abhängigkeit der Dosierung, wohingegen bei Grassilage und Heu bereits bei der zweiten Konzentrationsstufe (13,8 g/ kg T) signifikant höhere T-Verluste gegenüber der Kontrolle ermittelt wurden. Da mit Ausnahme des Biertreibers bei allen Futtermitteln ein signifikant positiver Enzymeinfluss bei Ermittlung der Auswaschverluste (0 h) beobachtet werden konnte, wird eine Hydrolyse der Zellbestandteile bereits im Futter eingeleitet.

3.3.2.2 NDF-Verlust

Krafffuttermittel Gerste, Biertreber und Getreideschlempe unter Zulage von Xylanase (*Bacillus subtilis*)

Zusätzlich zum T-Verlust wurden in diesem Versuch der NDF-Verlust nach 0 und 4 h Inkubation bei den untersuchten Futtermitteln in Abhängigkeit der Enzymkonzentration ermittelt. Tabelle 59 gibt den NDF-Verlust von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe wieder. Dabei zeigte sich bei **Gerste** bei den Auswaschverlusten (0 h) eine positive Beziehung zwischen NDF-Verlust und Xylanasekonzentration, wohingegen nach 4 h Inkubationsdauer keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen festgestellt werden konnten. Bei Betrachtung von **Biertreber** wurden bei den zwei hohen Konzentrationen des Enzyms Xylanase (*Bacillus subtilis*) signifikant höhere NDF-Auwaschverluste um im Mittel 2,7 % in Bezug zur Kontrolle analysiert. Nach vierstündiger Inkubation konnte lediglich zwischen XB3 und der Kontrollbehandlung ein signifikanter Unterschied von 5,5 % beobachtet werden. Dagegen wurde bei **Getreideschlempe** nach der Waschprozedur (0 h) bei allen drei Enzymkonzentrationen eine signifikante Erhöhung im NDF-Verlust um im Mittel 4,0 % zu K festgestellt. Nach 4 h Inkubation zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen.

Tab. 59: NDF-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe des Versuches V3-2 nach 0 und 4 h Inkubationszeit in Abhängigkeit der Xylanasezulage (\pm SD)

	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	XB1	XB2	XB3		
<u>0 h Inkubation</u>						
Gerste	1,32 ^c \pm 1,43	11,3 ^b \pm 1,02	13,1 ^{ab} \pm 1,52	15,1 ^a \pm 0,71	1,624	< 0,001
Biertreber	2,32 ^b \pm 0,21	1,75 ^b \pm 0,06	5,37 ^a \pm 1,03	4,72 ^a \pm 1,17	0,503	0,001
Getreideschlempe	13,3 ^b \pm 0,17	17,5 ^a \pm 1,25	17,6 ^a \pm 1,01	16,9 ^a \pm 0,44	0,571	< 0,001
<u>4 h Inkubation</u>						
Gerste	20,7 \pm 1,96	21,6 \pm 1,94	24,2 \pm 1,09	22,5 \pm 2,43	0,614	0,217
Biertreber	11,2 ^b \pm 4,63	14,4 ^{ab} \pm 1,17	16,2 ^{ab} \pm 1,49	16,7 ^a \pm 1,68	0,917	0,120
Getreideschlempe	31,2 \pm 1,57	33,2 \pm 0,30	34,2 \pm 1,08	33,8 \pm 2,75	0,538	0,217

Grundfuttermittel Maissilage, Grassilage und Heu unter Zulage von Cellulase (*Trichoderma reesei*)

Auch bei den Grundfuttermitteln Maissilage, Grassilage und Heu wurden in Abhängigkeit der Cellulasekonzentration die NDF-Verluste nach 0 und 4 h Inkubationsdauer ermittelt (Tab. 60). Bei **Mais-** und **Grassilage** konnten bei den hohen Enzymkonzentrationen CT2 und CT3 signifikant erhöhte NDF-Auswaschverluste (0 h) um im Mittel 1,8 % (Maissilage) bzw. 2,0 % (Grassilage) zu K beobachtet werden. **Heu** zeigte nur in der Behandlung CT2 mit 1,4 % einen signifikant höheren NDF-Verlust im Vergleich zu K (0,64 %). Nach vierstündiger Inkubation der **Mais-** bzw. **Grassilage** wurden signifikante Steigerungen von 4,9 bzw. 5,1 % bei der hohen Enzymzulage CT3 gegenüber K ermittelt. Die niedrigeren Konzentrationen zeigten nur numerische Verbesserungen. Bei **Heu** wurden keine signifikanten Differenzen zwischen den Behandlungen festgestellt.

Tab. 60: NDF-Verluste (%) von Maissilage, Grassilage und Heu des Versuches V3-2 nach 0 und 4 h Inkubationszeit in Abhängigkeit der Cellulasezulage (\pm SD)

	Behandlung				MSE	P-Wert
	K	CT1	CT2	CT3		
<u>0 h Inkubation</u>						
Maissilage	0,56 ^b \pm 0,47	0,06 ^b \pm 0,74	2,56 ^a \pm 0,47	2,15 ^a \pm 0,71	0,350	0,003
Grassilage	3,67 ^b \pm 0,81	3,02 ^b \pm 0,54	5,88 ^a \pm 0,22	5,51 ^a \pm 0,21	0,385	< 0,001
Heu	0,64 ^b \pm 0,11	0,69 ^b \pm 0,09	1,40 ^a \pm 0,14	0,78 ^b \pm 0,21	0,099	< 0,001
<u>4 h Inkubation</u>						
Maissilage	1,76 ^b \pm 2,82	2,05 ^{ab} \pm 2,84	4,37 ^{ab} \pm 2,35	6,68 ^a \pm 1,12	0,839	0,111
Grassilage	8,09 ^b \pm 2,12	11,0 ^{ab} \pm 2,10	10,4 ^{ab} \pm 2,62	13,2 ^a \pm 1,59	0,760	0,102
Heu	4,19 \pm 1,93	4,97 \pm 1,33	5,21 \pm 0,66	4,31 \pm 0,91	0,345	0,729

Da bei allen Futtermitteln eine Steigerung bei den NDF-Auswaschverlusten durch die jeweilige Enzymzulage, nach vierstündiger Inkubation jedoch nur bei Biertreber und den Silagen signifikante Verbesserungen gegenüber den Kontrollbehandlungen beobachtet werden konnten, tritt wohl eine Hydrolyse der Zellwandkomponenten verstärkt vor der Inkubation auf. Die eingesetzten Enzyme zeigen damit eindeutig futtermittelspezifische Einflüsse auf den NDF-Abbau im Pansen.

4 Diskussion

4.1 *Der Pansen unter besonderer Berücksichtigung enzymatischer Abbauprozesse*

4.1.1 Charakterisierung des Pansenökosystems

Beim Wiederkäuer liegen auf verschiedene Weise ideale Voraussetzungen für die mikrobielle Verdauung im Reticulo-Rumen vor. Im Vormagensystem des Wiederkäuers stellt der Pansen die größte Kammer mit einem Fassungsvermögen bis zu 100 l dar. Durch die Wiederkautätigkeit erfolgt eine intensive Zerkleinerung der aufgenommenen Futterpartikel. Die Ab- und Umbauprozesse sind vor allem von pflanzlichen, tierspezifischen und mikrobiellen Faktoren gekennzeichnet. So setzt sich das Pansenökosystem aus einer diversen Population aus obligatorisch anaeroben Bakterien, Pilzen und Protozoen zusammen (FORSBERG und CHENG, 1992).

Eine äußerst wichtige Rolle im Pansenstoffwechsel nehmen die Bakterien ein. Pansenbakterien lassen sich in vier Gruppen einteilen: (1) Bakterien, die sich in der Pansenflüssigkeit befinden (freilebend), (2) Bakterien assoziiert mit Futterpartikel, (3) Bakterien, die sich am Pansenepithel befinden und (4) Bakterien, welche sich an Protozoen anheften (MINATO et al., 1993). So lassen sich die Bakterien allgemein in „liquid associated bacteria“ (LAB), welche lösliche Substrate fermentieren und in „solid associated bzw. attached bacteria“ (SAB), welche die pflanzlichen Gerüstsubstanzen abbauen, einteilen. Die Bakterien, welche keine Gerüstsubstanzen abbauen, jedoch mit der Digesta assoziiert sind, sind im Übergangsbereich von der flüssigen zur festen Phase zu finden. Unter gewöhnlichen Fütterungsbedingungen sind 50-75 % der gesamten Mikrobenpopulation im Pansen mit Futterpartikel assoziiert. Es wird davon ausgegangen, dass diese Populationen einen Anteil von 80 % der Endoglucanaseaktivität und 75 % der Proteaseaktivität im Pansen decken. Bakterien in der flüssigen Phase (einschließlich der frei lebenden Bakterien) und von der festen Phase gelöste Bakterien scheinen somit einen geringen Beitrag zur Verdauung nicht löslicher Futterpartikel zu leisten. Entscheidend für den ruminalen Futterabbau sind somit die an Futterpartikel assoziierten Bakterien (MITSUMORI und MINATO, 1997). Bakterien, welche die Fähigkeit zur Cellulose-

anheftung besitzen, schließen sowohl die cellulolytischen Bakterien wie *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* und *Eubacterium cellosolvans* als auch die nicht-cellulolytischen Bakterien *Megasphaera elsdenii* und *Veillonella parvula* ein. Keines dieser Bakterien weist jedoch die Fähigkeit zur Stärkeanheftung auf. *Ruminobacter amylophilus*, *Prevotella ruminicola*, *Bifidobacterium thermophilum*, *Bifidobacterium pseudolongum* und *Bifidobacterium longum* sind dagegen amylolytisch, können aber keine Cellulose abbauen (MITSUMORI und MINATO, 1997). Stärke und Glucoseverwerter sind zahlenmäßig die größten Bakteriengruppen im Pansen (LEEDLE et al., 1982; AKIN et al., 1989). Dagegen sind Stämme von *Butyrivibrio fibrisolvans* „Generalisten“, welche eine Reihe von Substraten, einschließlich Stärke, Cellulose, Xylan und Pektin, hydrolysieren können (STEWART et al., 1997). Zwischen 30 und 50 % der von der Pansenflüssigkeit isolierten Bakterien weisen proteolytische Aktivität auf (FULGHUM und MOORE, 1963; PRINS et al., 1983). So zeigen mit Ausnahme der haupt-cellulolytischen Stämme *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* und *Ruminococcus albus* die meisten Bakterienarten proteolytische Aktivität. Als die bedeutendsten proteolytischen Organismen werden die drei Arten *Ruminobacter amylophilus*, *Butyrivibrio fibrisolvans* und *Prevotella ruminicola* angesehen. (HOBSON et al., 1968; JENKINSON et al., 1979). Bakterien können Pflanzenzellwände nur bei direktem Kontakt abbauen. Auch leicht verdauliche Kohlenhydrate können durch Bakterien nur abgebaut werden, wenn sie direkten Zugang zum Material haben. Bakterien heften sich hauptsächlich an Schnittstellen und Wunden; intakte Zellwandoberflächen sind meist frei von Bakterien (ENGELS, 1987). Entsprechend wichtig für den Abbauvorgang ist deshalb das „Aufbrechen“ der Gewebe, das während der Futteraufnahme oder beim Wiederkauen erfolgt (POND et al., 1984). Zudem nutzen die Bakterien die Gewebeschwächung, die von Pilzen verursacht wird. Die Bakterienzahlen im Pansen-Ökosystem weisen grundsätzlich tägliche Schwankungen in Abhängigkeit der Fütterung auf. Die cellulolytischen Bakterien vermehren sich nach der Fütterung langsam und erreichen ihre maximale Zahlen erst Stunden später als saccharolytische und amylolytische Arten, die sich nach der Fütterung schnell vermehren (LEEDLE et al., 1982). DEHORITY und ORPIN (1997) berichteten, dass die Bakterienzahlen nach der Fütterung zunächst sinken, nach fünf bis 20 Stunden (je nach Studie) ihr Maximum erreichen und dann wieder langsam abfallen. Diese verringerten Zahlen direkt nach der Fütterung können durch

Verdünnungseffekte sowie Temperatur- und pH-Wert-Änderungen, Sauerstoffeintritt in den Pansen, osmotische Schockereignisse sowie das Anheften von Organismen an die Faserpartikel verursacht werden. Darauf folgend kommt es durch das Nährstoffangebot zu einem Bakterienwachstum (DEHORITY und ORPIN, 1997; LEEDLE et al., 1982).

Anaerobe Pilze besiedeln bevorzugt dickwandige, hochlignifizierte und widerstandsfähige Zellwände und spielen eine große Rolle für den Abbau von Lignocellulose (AKIN und BORNEMAN, 1990). Auch Pilze heften sich hauptsächlich an Schnittstellen und Wunden, weniger an intakte Zellwandoberflächen (WINDHAM und AKIN, 1984). Pilze fermentieren Cellulose und Hemicellulosen (LOWE et al., 1987) und können das offensichtlich auch, wenn diese Kohlenhydrate in lignifizierten Zellwänden vorkommen. Pilze reduzieren die Zellwanddicke und können physikalische Barrieren besser als Bakterien durchbrechen. Insgesamt verursachen Pilze eine für den Abbau wichtige Schwächung des Gewebes, die auch die Effizienz des Wiederkauens steigert (AKIN und BORNEMAN, 1990). Pansenpilze an sich sind nicht essentiell für einen funktionierenden Pansenstoffwechsel, da sie bei Rationen mit sehr geringem Faseranteil nur in einer sehr kleinen Anzahl vorhanden sind (ORPIN und JOBLIN, 1997). Jedoch scheint die Wichtigkeit für das Pansenökosystem mit der Verschlechterung der Futterqualität zuzunehmen, wie es in einer Untersuchung von GORDON (1986) nachgewiesen wurde.

Neben den Bakterien und Pilzen sind zahlreiche größere (5-250 µm) Organismen im Pansen angesiedelt, welche als Protozoen bezeichnet werden. Die Anwesenheit dieser Protozoen im Pansen kann den Pansenstoffwechsel entscheidend beeinflussen, indem z.B. der T-Gehalt der Pansendigesta, das Pansenvolumen, die Anzahl und Zusammensetzung der ruminalen Bakterien, die Konzentration und Anteile der FFS oder der pH-Wert und die Ammoniakkonzentration beeinflusst werden (WILLIAMS und COLEMAN, 1997). Diese Modulation des Pansenökosystems wirkt sich direkt auf die bakterielle Aktivität aus. Zudem beteiligen sich die Protozoen direkt am Verdauungsprozess und ihre Abwesenheit wirkt sich negativ auf die Verdauung im Pansen aus. In defaunierten Tieren ist jedoch eine erhöhte Proteinmenge für die intestinale Verdauung verfügbar. Zudem zeigte sich eine erhöhte Stärke- und Faserverdauung im postruminalen Verdauungstrakt mit

unterschiedlichen Auswirkungen auf Tierleistungen (NEIL et al., 1979). Nahezu ein Viertel bis ein Drittel der ruminalen Faserverdauung findet unter protozoalem Einfluss statt (DEMEYER, 1981; ORPIN, 1984). Protozoen stimulieren zudem die bakterielle Cellulolyse (YODER et al., 1966) und ihre freigesetzten Enzyme spielen eine wichtige Rolle im ruminalen Abbau von Pflanzenbestandteilen (COLEMAN, 1985). Jedoch wurden sowohl positive (NEWBOLD et al., 1987; WILLIAMS et al., 1988; WILLIAMS und WITHERS, 1991) als auch negative Einflüsse (LENG und NOLAN, 1984; DEMEYER und VAN NEVEL, 1986; LENG, 1990) durch Protozoen beobachtet, wodurch diese Organismen zwar nicht als entscheidend, jedoch in manchen Fällen durchaus als positiv für den Pansenstoffwechsel einzustufen sind.

4.1.2 Ruminale Abbauvorgänge

Kohlenhydrate stellen die größte Nährstofffraktion in der Wiederkäuerration dar, welche in Nicht-Struktur- und Struktur-Kohlenhydrate unterschieden werden (STOKES, 1997). Den größten Teil der Kohlenhydrate in Wiederkäuerrationen stellt die Fraktion der Strukturkohlenhydrate der pflanzlichen Zellwand (Cellulose, Hemicellulose und Pektin) dar. Die Möglichkeit, diese Strukturkohlenhydrate zur Energiegewinnung zu nutzen, begründet die einzigartige ökologische Nische der Wiederkäuer (KIRCHHOF, 2007). Dabei sind die Wiederkäuer bei der Energiegewinnung aus den Zellwandbestandteilen auf die hydrolytische Spaltung derselben durch die Pansenmikroorganismen angewiesen (CHESSON und FORSBERG, 1988; CLARK et al., 1992). Diese mikrobiellen Symbionten sind hervorragend an das Überleben unter hohen Zelldichten und protozoalem Einfluss angepasst und haben die Fähigkeit der effizienten Nutzung von komplexen und schwer zugänglichen pflanzlichen Polymeren entwickelt. Der Abbau und die Umsetzung dieser pflanzlichen Komponenten wie Cellulose, Hemicellulose, Stärke und Protein durch Mikroorganismen deckt den Energie-, Aminosäuren- (Mikrobenprotein-) und Vitaminbedarf des Wirtstieres (SELINGER, 1996).

Die dazu erforderlichen Enzyme sind sehr mannigfaltig und schließen sowohl die Polymere der Pflanzenzellwand abbauenden Enzyme wie Cellulasen, Xylanasen, β -Glucanasen und Pektinasen als auch Amylasen, Proteasen, Phytasen und spezielle Toxin abbauende Enzyme wie Tannasen ein (DOERNER und WHITE, 1990, MALBURG und FORSBERG, 1993; FLINT et al., 1994; ALI et al., 1995, YANKE et al., 1995).

Der effiziente Abbau von komplexen Substraten bedarf einer gewissen Koordinationsfähigkeit dieser Vielzahl differenzierter Enzymarten. Für die Beschreibung der Organisation fibrolytischer Enzymsysteme werden zwei Modelle diskutiert: im ersten Modell agieren Enzyme einzeln und synergetisch bei der Hydrolyse von Cellulose (BÉGUIN und AUBERT, 1994; WOOD, 1992). Im zweiten Modell sind einzelne Enzyme in Multi-Enzymkomplexe wie Cellulosomen zusammengeschlossen (BAYER et al., 1994). Xylan und Mannan abbauende Enzyme von anaeroben Mikroorganismen werden nach derzeitiger Auffassung als integrierte Komponenten dieser Multienzym-Cellulase-Komplexe diskutiert (BÉGUIN und LEMAIRE, 1996; HAZLEWOOD und GILBERT, 1998). Auch Xylanasome, ein Komplex aus Endoxylasanen und Endoglucanasen, werden postuliert (FORSBERG et al., 1997). Die fibrolytischen Enzyme lassen sich basierend auf deren strukturellen Eigenschaften in Endoglucanasen, Exoglucanasen und β -Glucosidasen einteilen, welche synergetische Effekte bei der Celluloseverdauung aufweisen. Dabei trennen die Endoglucanasen eher zufällig die amorphen Celluloseketten auf und bilden neue Oligosaccharide verschiedener Kettenlänge. Diese Enzyme sind generell inaktiv gegenüber kristalliner Cellulose und Cellobiose (PETRE et al., 1986). Das Cellulose- bzw. β -Glucan-Molekül wird von Endo- β -1,4-Glucanasen in große Glucan-Oligosaccharide gespalten. Wie die Endoglucanasen zeigen Exoglucanasen und Cellobiohydrolasen (CBHs) eine hohe Aktivität bei amorpher Cellulose, bauen aber kristalline Cellulose weit weniger ab (WOOD and BHAT, 1988). Im allgemeinen attackieren diese Enzyme Celluloseketten vom nicht-reduzierenden Ende und bauen Cellobiose ab (WOOD et al., 1988). Die Cellobiohydrolasen lassen sich in zwei Klassen einteilen. Die erste Klasse hydrolysiert die Celluloseketten vorzugsweise vom reduzierenden Ende, während die zweite Klasse Cellobiose speziell vom nicht-reduzierenden Ende abbaut (BAAR et al., 1996; TERRI, 1997, LYND et al., 2002). β -Glucosidasen können klassifiziert werden entweder als Aryl- β -D-Glucosidasen (hydrolysieren ausschließlich Aryl- β -D-Glycoside), Cellobiasen (hydrolysieren Diglucoside und Cellooligosaccharide) oder als β -Glucosidasen mit breiter Substratspezifität. Die meisten β -Glucosidasen weisen eine breite Substratspezifität auf und hydrolysieren Aryl- und Alkyl- β -D-Glycoside und β -1,1-, β -1,2-, β -1,3-, β -1,4- und β -1,6- verbundene Diglucoside wie auch Cello-Oligosaccharide (BHAT et al., 1993; CHRISTAKOPOULOS et al., 1994). Exo- β -1,4-Glucanasen greifen an den freien Enden der Makromoleküle an und spalten Tri- bzw. Disaccharide bis zur Stufe von löslichen

Cellodextrine und Cellobiose ab. Diese werden danach von β -1,4-Glucosidase in Glucosemoleküle zerlegt (ZEBELI, 2005).

Xylanasen sind spezifisch für β -1,4-Bindungen von polymerem Xylan und werden als Endoxylanasen bezeichnet. Basierend auf ihre Wirkungsfähigkeit auf verschiedene Polysaccharide werden Endoxylanasen entweder als spezifisch oder nicht-spezifisch klassifiziert (COUGHLAN, 1992; COUGHLAN et al., 1993). Die spezifischen Endoxylanasen wirken nur bei Xylan mit β -1,4-Bindungen, wohingegen die nicht-spezifischen Endoxylanasen β -1,4-gebundenes Xylan, β -1,4-Bindungen von gemischtem Xylan und andere β -1,4-gebundene Polymere wie Carboxymethylcellulose hydrolysieren (COUGHLAN et al., 1993). Das Xylan-Molekül wird von Endo-1,4- β -Xylanasen partiell in Xylanoligosaccharide hydrolysiert. Exo-1,4- β -Xylanasen spalten das Molekül in kleinere Einheiten bis zur Xylobiose. Diese werden von β -Xylosidasen bis zur Xylose gespalten (KRAUSE und PELL, 2003).

Bei den Amylasen unterscheidet man zwischen α - und β -Amylase. Dabei spaltet die α -Amylase die α -1,4-Glycosidbindung der Amylose, wodurch Dextrine und daraus Maltose, Glucose und Oligosaccharide entstehen. β -Amylase spaltet vom Kettenende her ein Maltosemolekül nach dem anderen ab und kann daher umso besser wirken, je mehr Kettenenden durch die α -Amylase bereits entstanden sind. Amylasen sind im Pansen extrazellulär oder zellgebunden vorhanden (WALKER, 1965; HOBSON und SUMMERS, 1976; THURN und KOTARSKI, 1987), jedoch sekretieren die meisten amylolytischen Bakterien extrazelluläre Amylasen (COTTA, 1988).

Die im Pansen zu Monosaccharide abgebauten Oligosaccharide werden jedoch nicht resorbiert, sondern anaerob zu kurzkettigen Carbonsäuren abgebaut, welche auch als flüchtige Fettsäuren bezeichnet werden. Als quantitativ wichtigsten Endprodukte entstehen Acetat, Propionat und Butyrat sowie Methan und Kohlendioxid. Die flüchtigen Fettsäuren werden im Rahmen der Gluconeogenese (Propionat) bzw. über den Citratzyklus (v.a. Acetat und Butyrat) für die Energieversorgung und Fettsynthese genutzt (KIRCHGESSNER, 1997).

Die Spaltung der Proteine bzw. Peptide erfolgt durch Peptidasen, wobei wiederum zwischen Exo- und Endopeptidasen unterschieden wird. Das Futterprotein wird durch proteolytisch wirkende Mikroorganismen zu Aminosäuren hydrolysiert und nahezu vollständig desaminiert, woraus hauptsächlich Ammoniak und kurzkettige Carbonsäuren resultieren. Der im Pansen nicht abgebaute Teil der Futterproteine gelangt unverändert in das Labmagen-Dünndarm-Segment. Der im Pansen vorhandene NH_3 -Stickstoff wird durch mikrobielle Synthese zum Aufbau von Bakterien- und Protozoenprotein (Mikrobenprotein) verwendet, welche bei Passage in das Labmagen-Dünndarm-Segment zur Aminosäurenbedarfsdeckung des Wirtstierorganismus genutzt werden kann. Darüber hinaus kann der in der Leber gebildete Harnstoff im Rahmen des rumenohepatischen Kreislaufs über den Speichel rezykliert werden und wieder von den Mikroorganismen zur Proteinsynthese genutzt werden (JEROCH et al., 1999).

4.2 Zum Einsatz von Enzymen in der Wiederkäuerernährung

Enzyme, welche in der Tierproduktion Verwendung finden, sind Produkte mikrobieller Fermentation nach dem Batch-Verfahren (COWAN, 1994). Die meisten kommerziell verfügbaren Enzymprodukte, welche als Futteradditive für Wiederkäuer evaluiert werden, wurden jedoch nicht speziell für die Tierernährung, sondern vielmehr für Bereiche wie die Lebensmittel-, Papier- Textil-, Treibstoff- oder chemische Industrie hergestellt (BHAT und HAZLEWOOD, 2001). Einige verwendete Enzymprodukte wurden ursprünglich auch für den Einsatz als Silagezusätze produziert (FENG et al., 1996). In erster Linie kommen dabei fibrolytische Enzyme zum Einsatz. Auch Amylasen und in geringer Weise Peptidasen werden verwendet. Neben diesen relativ reinen Enzymquellen werden auch unaufbereitete Fermentationsprodukte und einige, direkt zu verfütternde Mikroorganismen nicht bakteriellen Ursprungs (DFM) vertrieben. Die meisten nicht-bakteriellen DFM bestehen aus Fermentationsextrakte von *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*-Kulturen oder aus beiden (MARTIN, 2000). Im Gegensatz zu den konzentrierten Futterenzymen enthalten diese Präparate relativ geringe Enzymaktivitäten (< 5 %) (BEAUCHEMIN et al., 2003). Diese nicht exakt definierten Produkte werden im Rahmen dieser Arbeit nicht näher betrachtet. Der Fokus richtet sich auf konzentrierte Fermentationsprodukte mit kontrollierten Enzymaktivitäten.

Auf Grund inkonsistenter Ergebnisse verschiedener Untersuchungen, welche sich mit dem Einsatz solcher Enzyme als Futteradditive für Wiederkäuer beschäftigen, haben wohl mehrere Faktoren einen Einfluss auf deren Wirkungsfähigkeit im Bereich der Wiederkäuerernährung. In besonderer Weise gilt es dabei die verschiedenen möglichen Wirkungsweisen, die Zulagekonzentrationen und –substrate und der Zeitpunkt der Applikation zu betrachten.

4.2.1 Wirkungsweise exogener Enzyme

In Hinblick auf die außergewöhnlich hohe Stärke- und Faserverdauungskapazität im Pansen von Wiederkäuern ist es schwierig, weitere Verbesserungen der Futterverwertung durch die Zulage von exogenen Enzymen auf Kraft- oder Grundfuttermittel zu erklären. Die Wirkungsweise von exogenen Enzymen scheint jedoch auf jeden Fall sehr komplex zu sein. Exogene Enzyme scheinen entweder bereits im Futter vor der Verfütterung oder durch eine Verbesserung der ruminalen und/ oder postruminalen Verdauung zu wirken. All diese Wirkungsmöglichkeiten scheinen jedoch miteinander verknüpft zu sein, denn eine durch Enzyme eingeleitete Änderung des Futters beeinflusst ebenso die ruminale als auch die postruminale Nährstoffverdauung. Effekte im Futter können so einfach sein wie z.B. die Freisetzung löslicher Kohlenhydrate oder aber auch so komplex wie die Beseitigung struktureller Barrieren, welche die mikrobielle Verdauung im Pansen limitieren. Innerhalb des Pansens können die zugeführten Enzyme entweder direkt auf das Futter einwirken oder durch synergistische Effekte auf ruminale Mikroorganismen indirekt die Verdauungsaktivität anregen. Exogene Enzyme können zudem auch im intestinalen Verdauungstrakt aktiv bleiben, was sich positiv auf die postruminale Faserverdauung oder indirekt auf eine verbesserte Nährstoffabsorption durch eine Viskositätsverringerng der intestinalen Digesta auswirken könnte (RODE et al. 2001). Im Folgenden sollen die verschiedenen möglichen Wirkungsweisen näher betrachtet werden.

4.2.1.1 Enzymeffekte im Futter

Die Zulage von Enzymen auf Rationskomponenten in flüssiger Form kann sich, wie es in zahlreichen Studien (siehe Punkt 4.3.4) berichtet wurde, positiv auf Tierleistungen auswirken. Somit ist ein Enzymeffekt im Futter nicht auszuschließen. In Hinblick der äußerst wichtigen Rolle von Wasser für die Hydrolyse von löslichen Zuckern aus komplexen Polymeren (LEHNINGER, 1982) ist wohl die Effektivität der Enzyme bei „feuchten“ Futtermitteln höher als bei „Trockenen“. Zahlreiche Untersuchungen belegen aber genau das Gegenteil, in welchen sich die Zulage auf trockene Komponenten als effektiver erwies als auf Feuchte (FENG et al., 1996; BEAUCHEMIN et al., 1995; BEAUCHEMIN et al., 1998). Jedoch sind Futtermittel in den seltensten Fällen wirklich „trocken“, denn sie weisen üblicherweise Feuchtigkeitsgehalte von 6 bis 15 % auf. Diese Restfeuchte könnte somit ausreichend für die Einleitung der Hydrolyse und somit für die Freisetzung löslicher Zucker sein. Diese freigesetzten Zucker entstehen zumindest teilweise aus NDF und ADF in Folge von Enzymzulagen (HRISTOV et al., 1996; GWAYUMBA und CHRISTENSEN, 1997). Auch in der vorliegenden Arbeit wurden in den Versuchen V1-1 und V3-2 erhöhte T- und NDF-Verluste durch die Enzymzulagen bei Bestimmung der Auswaschverluste und somit vor der ruminalen Inkubation ermittelt. Dabei ergaben sich sowohl bei den feuchten Futtermitteln Maissilage und Grassilage als auch bei den „trockenen“ Futtermitteln Gerste, Biertreber, Getreideschlempe und Heu signifikant positive Behandlungseffekte. Diese Wirkung bei den trockenen Futtermitteln kann zum einen durch die Applikationsform der Enzyme, zum anderen durch die Waschprozedur bei Ermittlung der Auswaschverluste begründet werden. Die Applikation der Enzyme erfolgte verdünnt mit destilliertem Wasser, so dass in Versuch V1-1 40 g Enzymlösung pro kg T Futter, in Versuch V3-1 100 g pro kg T Inkubationsmaterial supplementiert wurden, was zu einer Erhöhung des Wassergehaltes der Futtermittel führte. Zur Ermittlung der Auswaschverluste wurden zudem die Futtermittel ohne vorheriger Panseninkubation einer Waschprozedur in einer Waschmaschine ausgesetzt und somit durchfeuchtet, was wiederum eine Hydrolyse der NDF auslösen hätte können. Die Frage, ob und welche Wasserzulage die Enzymwirkung einleitete, kann somit nicht eindeutig geklärt werden. Es bleibt jedoch festzuhalten, dass durch die Zulage der Enzympräparate Celluclast® und Roxazyme® (Versuch V1-1) bzw. Xylanase (*Bacillus subtilis*) und Cellulase (*Trichoderma reesei*) (Versuch

V3-1) bereits im Futtermittel selbst ein Abbau von Gerüstsubstanzen eingeleitet werden konnte, was anhand des NDF-Verlustes nachgewiesen wurde. Auch GIRALDO et al. (2007a) stellten niedrigere NDF- und ADF-Gehalte in einer TMR in Folge einer Cellulasezulage fest. NSEREKO et al. (2000) berichteten bei Zugabe eines fibrolytischen Enzympräparates (Liquicell 2500) über geringere NDF-Konzentrationen in Heu, während durch die Zugabe einer Xylanase die Konzentration in Bezug zur Kontrolle erhöht wurde. WANG et al. (2002) stellten sowohl in Gersten- als auch in Maissilage eine erhöhte Konzentration an reduzierende Zucker 24 Stunden nach einer Enzymapplikation fest. Ein reduzierter NDF-Gehalt und eine damit verbundene Erhöhung des Gehaltes an reduzierende Zucker in Folge von Enzymzulagen konnten WANG et al. (2001) auch bei Gerste, jedoch nicht bei Luzernenheu beobachten. Auch ELWAKEEL et al. (2007) ermittelten erhöhte T-Verluste in Folge von alleiniger Enzymzulagen. Jedoch können nach Meinung von ELWAKEEL et al. (2007) anhand dieser einfachen Enzyminkubation keine effizienten Aussagen über die Effekte auf die ruminale Fermentation getroffen werden. RODE et al. (2001) verneinen eine nachweisbare Enzymwirkung in Form von Trockenmasse- oder Faserverlust ohne einer gewissen feuchten Inkubationsdauer. Beobachtbare Verluste bei trockenen Futtermitteln wurden daher mit der Art der Enzymapplikation begründet, was auch in der vorliegenden Arbeit zutreffen könnte. WING et al. (1988) konnten jedoch keine vergleichbaren Leistungssteigerungen, welche in Folge exogener Enzymzulagen ermittelt wurden, durch die Zulage von Melasse (9 % der Gesamtration) und somit löslicher Kohlenhydrate beobachten. Zudem belegen eine Vielzahl von Untersuchungen, dass lösliche Kohlenhydrate durch assoziative Effekte die Faserverdauung bei Wiederkäuer beeinträchtigen können (HUHTANEN, 1991). Auch die Tatsache einer verstärkt positiven Enzymantwort bei alleiniger Zulage auf Kraftfuttermittel mit niedrigen Fasergehalten, wie es in Arbeiten von BEAUCHEMIN et al. (1999) und YANG et al. (1999) beobachtet wurde, kann durch den Enzymeffekt im Futter nicht geklärt werden. Dies bekräftigt die Vermutung, dass der Hauptanteil von positiven Leistungsentwicklungen in Folge exogener Enzymzulagen bei Wiederkäuer durch Effekte im Verdauungssystem begründet sein muss (RODE et al., 2001).

4.2.1.2 Ruminale Enzymeffekte

Direkte Hydrolyse von Zellbestandteilen

Als eine der wichtigsten Voraussetzungen für einen Enzymeffekt im Pansen ist die ruminale Stabilität der von außen zugeführten Enzyme zu nennen. HRISTOV et al. (1998a) untersuchten zwei kommerzielle Enzympräparate (E1 und E2) *in vitro* und *in vivo* auf ihre Pansenstabilität. Dabei stellten sie unter den *in vitro*-Bedingungen in der Pansenflüssigkeit eine um 169 % , 49 % und 61 % (für E1) bzw. 198 %, 375 % und 107 % (E2) erhöhte Carboxymethylcellulase (CMCase)-, Xylanase- und β -Glucanaseaktivität im Vergleich zur Kontrolle fest, was auf eine erstaunlich hohe Beständigkeit gegen mikrobielle Fermentation schließen lässt. Im *in vivo*-Versuch wurden die Enzympräparate direkt in den Pansen von laktierenden Kühen gegeben und innerhalb einer Zeitspanne von 15 h Pansen- bzw. Darmproben auf die Substrat-abbauenden Aktivitäten (CMCase, Xylanase, β -Glucanase und Amylase) gemessen (Tab. 61). Es ergaben sich durchschnittlich für beide Enzyme E1 und E2 um 169 bzw. 198 % erhöhte CMCase-Aktivitäten im Pansen in Bezug zur Kontrolle. Die Verabreichung von E2 erhöhte die durchschnittliche Xylanaseaktivität im Pansen (innerhalb der Sammelperiode) um 375 %, die β -Glucanaseaktivität um 107 % gegenüber der Kontrolle. Die niedrigere β -Glucanaseaktivität des Präparates E1 im Vergleich zu E2 deutet auf eine geringere Stabilität des Enzyms im Pansen hin. Das Enzym 2 erhöhte, im Gegensatz zu E1, auch die ruminale Amylaseaktivität. Die höchsten Aktivitäten in der Pansenflüssigkeit wurden 1,5 h nach Verabreichung gemessen. Die Abbaurate der verschiedenen Enzymaktivitäten war zudem für E2 niedriger als für E1, was auf eine stärkere Bindungskapazität von E2 schließen lässt. Enzymprodukte weisen somit eine unterschiedliche Resistenz gegenüber ruminalem, proteolytischem Abbau auf. Unterschiede in der Stabilität zwischen verschiedenen Enzympräparaten können nach FONTES et al. (1995) mit den unterschiedlichen Herkünften erklärt werden.

Weiterhin wurde in diesem Versuch eine Erhöhung der Enzymaktivitäten im Darm beobachtet, wodurch neben einer Enzymwirkung vor der Verfütterung und/ oder im Pansen auch ein Effekt im Bereich des Dünndarms möglich scheint. Dies ist jedoch

in verstärktem Masse von der Enzymart und den spezifischen Enzymaktivitäten abhängig (HRISTOV et al., 1998a).

Tab. 61: Mittlere Enzymaktivitäten* zweier Enzympräparate in der Pansen- bzw. Darmdigesta 0 h und 1,5 bis 15 h (Mittelwert) nach der Enzyminfusion (nach HRISTOV et al., 1998)

	Pansen		Duodenum	
	0 h	Ø 1,5 - 15 h (nach Enzyminfusion)	0 h	Ø 1,5 - 15 h (nach Enzyminfusion)
CMC-ase				
Kontrolle	21,9	17,9 ^b	1,31	0,85 ^b
Enzym 1	25,6	48,1 ^a	0,83	3,82 ^a
Enzym 2	25,3	53,4 ^a	1,58	3,77 ^a
Xylanase				
Kontrolle	83,3	70,9 ^b	0,66	0,84 ^c
Enzym 1	81,9	105,9 ^a	1,32	2,82 ^b
Enzym 2	92,4	336,6 ^a	1,03	23,3 ^a
β-Glucanase				
Kontrolle	106,7	79,1 ^c	0,34	0,53 ^b
Enzym 1	104,9	127,2 ^b	0,34	2,41 ^a
Enzym 2	104,7	163,9 ^a	0,61	3,75 ^a
Amylase				
Kontrolle	32,3	44,8 ^{AB}	0,60	0,54 ^b
Enzym 1	41,4	39,4 ^B	0,88	0,51 ^b
Enzym 2	47,8	59,2 ^A	1,02	1,32 ^a

*Aktivität ist angegeben als nmol reduzierender Zucker pro ml Digesta nach 1 Min

a, b, c Werte innerhalb der gleichen Spalte und Aktivität mit unterschiedlichen Hochstellen unterscheiden sich (P<0,05)

A, B Werte innerhalb der gleichen Spalte und Aktivität mit unterschiedlichen Hochstellen unterscheiden sich (P<0,10)

Auch MORGAVI et al. (2000a, 2001) stellten in ihren Untersuchungen hohe Stabilitäten von exogen zugeführten Enzymen in der Pansenflüssigkeit und eine somit hohe Beständigkeit gegen mikrobiellen Abbau fest. Zudem ergaben sich ebenso erhöhte Aktivitäten im Bereich des Dünndarms. Somit scheint die Gefahr der ruminalen Proteolyse kein limitierender Faktor für den Einsatz von Enzymen als Futterzusatzstoffe zu sein. Jedoch zeigten die Enzyme wiederum eine große Variabilität in Abhängigkeit ihrer Herkunft, so dass einige Produkte besser als andere für den Einsatz beim Wiederkäuer geeignet sind. Eine Applikation der Enzyme über das Futter scheint sich auf Grund der besseren Substratbindung positiv auf die Stabilität auszuwirken. Ohne diesen stabilen Enzym-Futterkomplex befinden sich die Enzyme zudem in der Pansenflüssigkeit, was zu einer schnelleren ruminalen Auswaschung

führen kann. Auch SUTTON et al. (2003) berichteten über nur geringe ruminale Aktivitätssteigerungen in Folge fibrolytischer Enzyminfusionen, was den positiven Effekt der Substratbindung bestätigt.

Neben dem bereits angesprochenen Einfluss der Enzymart und -herkunft variiert die Stabilität der verschiedenen exogenen Enzyme im Pansen auch zwischen einzelnen Kühen. Ein deutlicherer Zusammenhang zwischen proteolytischer Aktivität im Pansen und Enzymaktivität bei den Glycosidasen und besonders bei β -Xylosidase zeigte sich in einem Versuch von RODE et al. (2001), in welchem verschiedene Enzympräparate bis zu 6 h in der Pansenflüssigkeit von vier Kühen inkubiert wurden (Abb. 10). Dabei wurde bei der einen Hälfte der untersuchten Tiere eine schnelle, bei der anderen Hälfte eine langsame Inaktivierung von β -Xylosidase beobachtet. Dies bekräftigte die Autoren zu der Vermutung, dass die ruminale Aktivität exogener Enzyme von den Pansenbedingungen und in starkem Masse von der ruminalen proteolytischen Aktivität im Wirtstier abhängig ist.

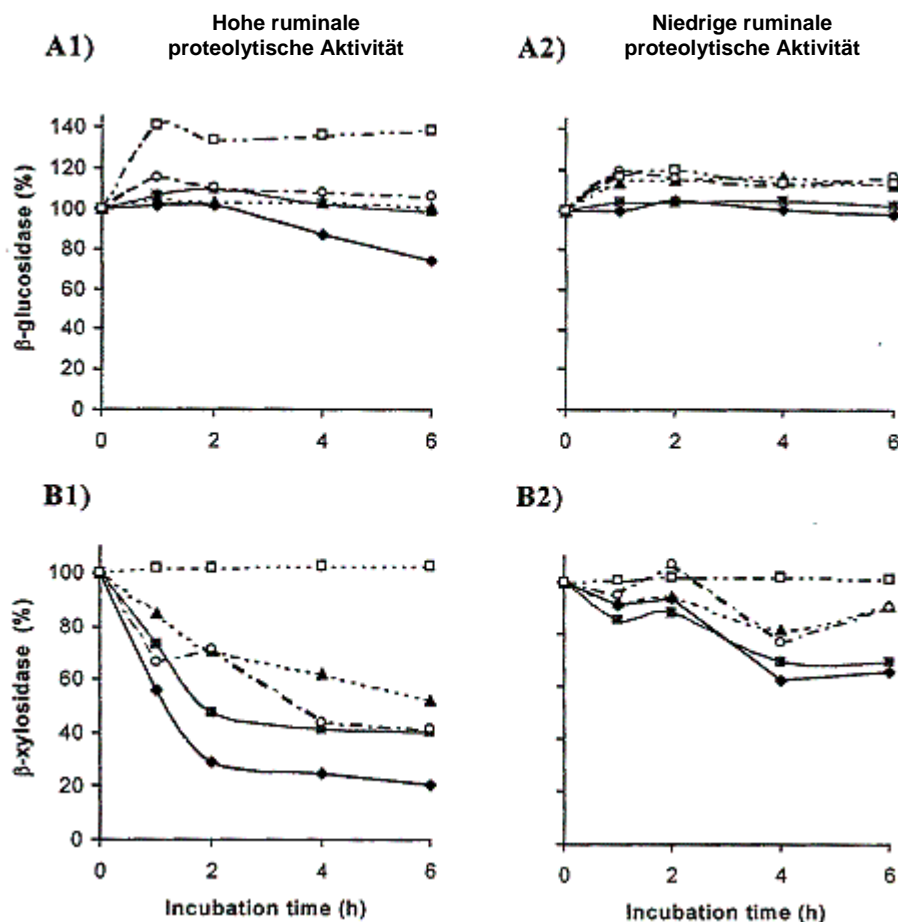


Abb. 10: Ruminale Stabilität von β -Glucosidase (A) und β -Xylosidase (B) von verschiedenen Enzympräparaten 0 h (=100%) bis 6 h nach der Fütterung in Abhängigkeit der proteolytischen Aktivität im Pansen der Versuchstiere (1=hohe ruminale proteolytische Aktivität 2=niedrige ruminale proteolytische Aktivität) (nach RODE et al., 2001)

DEHORITY und ORPIN (1997) brachten eine erhöhte Stabilität von Futterenzymen nach der Fütterung mit der reduzierten Anzahl von Mikroorganismen und der Anwesenheit von leicht verfügbaren löslichen Nährstoffen in Verbindung. Zudem befindet sich kurz nach der Fütterung der Pansen-pH unter dem Optimum für die meisten mikrobiellen Proteasen (WALLACE et al., 1997; KRAUSE et al., 1998) und vom Futter freigesetzte Proteine tragen nach Meinung von RODE et al. (2001) zusätzlich zur Enzymstabilität bei. Diesen Einfluss der Proteinkonzentration nutzten HRISTOV et al. (1998a, b) für die Erklärung der höheren Enzymstabilität bei Zulage extrem hoher Enzymdosens. Die Tatsache jedoch, dass exogene Enzyme zumindest für einige Stunden im Pansen aktiv bleiben, bekräftigt die Möglichkeit einer verbesserten Verdauung durch direkte Hydrolyse von aufgenommenem Futter im Pansen (RODE et al., 2001).

Es muss aber einschränkend darauf hingewiesen werden, dass der Anteil der Enzymaktivität in der Pansenflüssigkeit in der Regel weniger als 30 % der gesamten ruminalen Aktivität ausmacht, während der Großteil mit Futterpartikeln verbunden ist (MINATO et al., 1966; BROCK et al., 1982; MCALLISTER et al., 2001). WALLACE et al. (2001) schätzten den Anteil der zugelegten Enzyme an den im Pansen vorhandenen Enzymen auf 5-15 %. Dieser Anteil könnte zudem noch zu hoch geschätzt worden sein, da die Enzymaktivität der endogenen Enzyme nur aus der flüssigen Phase mit der dort natürlicherweise geringeren Aktivität gemessen wurde. Zu berücksichtigen ist auch, dass die natürliche Schwankungsbreite der Enzymaktivität im Pansen 5-15 % beträgt (WALLACE et al., 2001).

Da exogene Enzyme nur eine sehr kleine Fraktion an der gesamten Enzymaktivität im Pansen decken (MORGAVI et al., 2000b) und Pansenmikroorganismen schon an sich im Stande sind Zellwandkomponenten zu verdauen, ist es schwierig sich vorzustellen, wie exogene Enzyme durch direkte Hydrolyse der Futterpartikel eine Verbesserung der ruminalen Faserverdauung bewirken könnten. Wenn jedoch das Enzymprodukt genau die Aktivität beinhaltet, welche für einen nicht optimalen Nährstoffabbau im Pansen ursächlich ist, scheint es als möglich, dass die Enzymsupplementation das Gesamtniveau im Pansen erhöht (RODE et al., 2001) und Leistungssteigerungen sichtbar werden. Jedoch ist anzunehmen, dass Futterenzyme nicht (nur) additiv, sondern eher synergistisch mit der Mikroflora im Pansen agieren.

Synergismus mit Pansenmikroorganismen

Verbesserungen von Faserverdauung und tierischen Leistungsparametern durch exogene Enzymzulagen sind wohl verstärkt mit synergistischen Effekten zwischen Futterenzymen und Pansenmikroben in Verbindung zu bringen. Diese Theorie setzt natürlicherweise voraus, dass die zugelegten Präparate Enzyme beinhalten, deren Abwesenheit unter natürlichen Bedingungen den Abbau von Pflanzenzellwänden limitieren würden. Als limitierende Faktoren für eine optimale ruminale Verdauung können unzureichende Mengen bzw. Arten an mikrobiellen Enzymen, fehlende Interaktionen zwischen hydrolysierenden Enzymen und Substrate oder ungünstige Bedingungen für eine optimale Enzymaktivität (wie z.B. niedrige ruminale pH-Werte) genannt werden (RODE et al., 2001). Die Grundvoraussetzung bleibt weiterhin, wie im vorherigen Abschnitt diskutiert, eine gewisse, wenn auch nur zeitlich begrenzte ruminale Stabilität.

Erhöhte Bakterienzahlen im Pansen von Milchkühen beobachteten NESERKO et al. (2002) bei Zulage eines vorrangig fibrolytischen Enzympräparates aus *Trichoderma longibrachiatum*. Dabei wurden Steigerungen der ruminalen Gesamtbakterienpopulation in Abhängigkeit der Konzentration von etwa 230 % (1,0 ml/ kg/ T), 330 % (2,0 ml/ kg T), 390 % (5,0 ml/ kg T) und 250 % (10 ml/ kg T) ermittelt. Bei der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Studie (ZEITZ, 2007) wurden dagegen keine signifikanten Steigerungen durch Zulage eines fibrolytischen Enzympräparates (Roxazyme® G2 Liquid) in zwei verschiedenen Konzentrationen (13,8 bzw. 27,7 g/ kg T) festgestellt. Es wurde dagegen bei einem Bakterium (*Anaerovibrio lipolytica*), bei dem es sich um einen vorwiegenden Fructose- und Laktatverwerter handelt, sogar eine signifikante Reduzierung des Anteils an der Gesamtbakterienpopulation um 12,6 % (Konz. 1: 13,8 g/ kg T) und 9,3 % (Konz. 2: 27,7 g/ kg T) in Bezug zur Kontrollbehandlung analysiert. Die ermittelten faserabbauenden Bakterienstämme zeigten tendenziell höhere Anteile in Folge der Enzymzulagen. Der DNA-Anteil von *Fibrobacter succinogenes* stieg mit steigender Enzymdosis um 2,4 % (Konz. 1) und 4,5 % (Konz. 2), wohingegen sich der Anteil von *Ruminococcus flavefaciens* lediglich bei der niedrigen Dosierung um 2,9 % in Bezug zur Kontrolle erhöhte. Bei der überwiegenden Zahl der in der Literatur dargestellten Versuche konnte bei insgesamt erhöhten Bakterienzahlen kein Einfluss auf die Cellulolyten festgestellt werden (FONDEVILA et al., 1990; VAREL und KREIKEMEIER, 1994; COLOMBATTO et. al., 2003b).

Auch in der Arbeit von NSEREKO et al. (2002) wurden zwar erhöhte Zahlen von cellobiotischen ($P < 0,01$), xylanolytischen ($P < 0,05$) und amylolytischen ($P < 0,05$) Bakterien in Folge der Enzymzulage, jedoch kein Effekt auf die cellulolytischen Stämme beobachtet. Ein tendenzieller Anstieg der saccharolytischen bzw. amylolytischen Stämme *Prevotella ruminicola*, *Selenomonas ruminantium* und *Treponema bryantii* zeigten sich auch in der Untersuchung von ZEITZ (2007) im Rahmen der vorliegenden Arbeit bei Zulage von Roxazyme® in der hohen Konzentration (27,7 g/ kg T). GIRALDO et al. (2007a) beobachteten bei zwei Enzympräparaten (Cellulasen) eine Erhöhung der „liquid associated Mikroorganismen“, während beim dritten Präparat keine Enzymeffekte festgestellt werden konnten. Die „solid associated Mikroorganismen“ wurden dagegen bei keinem Enzympräparat beeinflusst. Die Untersuchung wurde mit Hilfe eines Rusitec Fermenters unter Einsatz eines ^{15}N mikrobiellen Markers *in vitro* durchgeführt.

Grundsätzlich muss davon ausgegangen werden, dass sich eine Änderung der Bakterien im Pansen auch auf die anaeroben Pilze und die Protozoen im Pansen auswirkt bzw. dass hier Wechselwirkungen bestehen. NSEREKO et al. (2002) berichteten, dass die Pilzsporen linear mit steigender Enzymkonzentration abnahmen. Dies könnte darauf hinweisen, dass Bakterien in Folge eines erhöhten Anheftungspotentials an Zellwandoberflächen, ausgelöst durch Enzymapplikationen, verstärkt mit den Pansenpilzen konkurrieren und deren Aufgabe teilweise übernehmen. Ein vielleicht noch entscheidenderer Effekt ist die quadratische Abnahme der Protozoenpopulation. Dies kann zusätzlich den Anstieg der Bakterienpopulation und auch die Zunahme von am Dünndarm ankommendem Mikrobenprotein als Auswirkungen von Enzymzulagen erklären (NSEREKO et al., 2002). In einer Untersuchung von WANG et al. (2001) hatte ein fibrolytisches Enzympräparat dagegen keine Auswirkungen auf die Protozoenzahlen *in vitro*. YANG et al. (1999) konnten hingegen tendenziell ($P < 0,15$) erhöhte Protozoenzahlen in der Pansenflüssigkeit nachweisen. OELLERMANN et al. (1990) untersuchten bei fünf pansenfistulierten Kühen den Effekt eines Fermentationsextraktes von *Aspergillus oryzae*. Bei Protozoen sowie aeroben und anaeroben Pilzen wurden keine Veränderungen beobachtet. In einem anderen Versuch mit einem Fermentationsextrakt von *Aspergillus oryzae* bei Schafen und einer Ration mit Gerstenstroh und Harnstoff erhöhte die Zulage des Extraktes zwar die gesamten kultivierbaren

Bakterien, die cellulolytischen Bakterien, Ciliaten und die anaeroben Pilze blieben jedoch unverändert (FONDEVILA et al., 1990). PAUL et al. (2004) fanden bei Einsatz einer anaeroben Pilzkultur (*Piromyces communis*) 4,4-fache Steigerungen der Pilzzahlen.

Wie bei dem Enzymeinfluss auf die ruminale Bakterienpopulation widersprechen sich auch die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen bei der Protozoen- und Pilzpopulation, womit eine exakte Einschätzung des Enzymeffekts auf die Pansenmikroorganismen nicht möglich ist. Festzuhalten bleibt jedoch, dass trotz des nivellierenden Effekts von Roxazyme® auf die untersuchten Bakterienstämme in Versuch V2-1 sich erhöhte effektive ruminale Abbaubarkeiten von Futtermitteln *in situ* zeigten und somit der Einfluss von Roxazyme® auf die untersuchten Stämme nicht als entscheidendes Kriterium für die Wirkungsfähigkeit des Enzympräparates zu sehen ist.

RODE et al. (2001) diskutierten hingegen, dass Enzyme sich positiv auf die Anheftung von Bakterien auf Pflanzenfasern auswirken könnten. NEWBOLD (1997) berichteten über eine erhöhte Anheftung der Pansenbakterien bei Zulage von *Aspergillus foetidus in vitro*. Dies konnten die Autoren in einem *in vivo*-Versuch mit Schafen bestätigen, in welchem durch Zulage des Pilzes auf die Ration die Anheftung der Cellulolyten auf inkubiertes Stroh stimuliert wurde. Auch YANG et al. (1999) konnten bei Applikation exogener Enzyme auf Luzernenheu eine erhöhte bakterielle Kolonisierung des Futters feststellen. WANG et al. (2001) beobachteten eine um den Faktor 10 erhöhte Anzahl cellulolytischer Bakterien auf enzymbehandeltem Futter verglichen mit der Kontrollbehandlung. Der Mechanismus, durch welchen fibrolytische Enzyme die Anheftung von Pansenbakterien an Pflanzenfasern stimulieren ist nicht bekannt (RODE et al., 2001). Jedoch konnten durch die Freisetzung löslicher Zucker aus Pflanzenfasern die Anheftung von Pilzen und Protozoen an Pflanzenzellwänden im Pansen angeregt werden (ORPIN, 1979). Somit scheint es möglich, dass durch die Freisetzung löslicher Zucker durch exogene Enzyme die chemotaxische Anziehung und somit die Anheftung von Bakterien an die Pflanzenoberfläche erhöht werden, womit eine Änderung der Oberflächenstruktur verbunden sein und die mikrobielle Kolonisierung angeregt werden könnte (NEWBOLD, 1997; CHENG und McALLISTER, 1997; GIRALDO et al., 2007a). Dies würde

auch die Tatsache erklären, dass bereits die Zulage geringer Aktivitäten einen erheblich positiven Einfluss auf die Verdaulichkeit haben können, wie es in Studien von YANG et al. (1999), RODE et al. (1999) und ROJO et al. (2005) berichtet wurde.

Einfluss des ruminalen pH-Wertes

Auf Grund der relativ geringen Fasergehalte von Getreide- bzw. Kraftfuttermittel ist es überraschend, dass die Zulage fibrolytischer Enzyme auf getreidereiche Rationen eine verbesserte Futterverdauung (KRAUSE et al., 1998) und höhere Leistungszahlen (BEAUCHEMIN et al., 1997; IWASSA et al., 1997) bewirkten. Diese Tatsache kann mit den unterschiedlichen pH-Optimas endogener, d.h. im Pansen von Mikroorganismen produzierter Enzyme, und kommerzieller exogener Enzyme in Zusammenhang gebracht werden (RODE et al., 2001). Untersuchungen zeigten, dass bei pH-Werten unter 6,2 das ruminale Wachstum von Bakterien (RUSSEL und DOMBROWSKI, 1980) und die ruminale Faserverdauung (HOOVER et al., 1984; COLOMBATTO et al., 2003; COLOMBATTO et al., 2007) beeinträchtigt sind. Viele kommerzielle fibrolytische Enzyme haben mit < 6,0 (GASHE, 1992; RODE et al., 2001) im Vergleich zu von Pansenbakterien isolierten Enzymen mit > 6,2 (GREVE et al., 1984; MATTE und FORSBERG, 1992) ein relativ niedriges pH-Optimum. Diese Tatsache könnte sich positiv auf die Wirkungsfähigkeit exogener Enzymzulagen insbesondere in den ersten Stunden nach der Fütterung auswirken.

Bei den in Versuchsreihe 3 eingesetzten Enzymen Xylanase (*Bacillus subtilis*) und Xylanase (*Pseudoalteromonas haloplanktis*) wurden laut Hersteller (Fa. Beldem) pH-Optimas zwischen 6 und 7 deklariert, wohingegen bei Cellulase (*Trichoderma reesei*) diese These mit einem pH-Optimum von 4,5-5,5 bestätigt werden kann. Jedoch wurden in der vorliegenden Arbeit im Pansensaft der Versuchstiere bei den Entnahmen ≤ 3 h als auch > 3 h nach der Fütterung jeweils ein mittlerer pH-Wert von 6,7 analysiert, wodurch die spezifischen Enzymeffekte vor allem innerhalb der ersten vier Inkubationsstunden in Folge unterschiedlicher pH-Werte nicht erklärt werden können. Zudem zeigte die Xylanase (*Pseudoalteromonas haloplanktis*) keine Wirkungsfähigkeit, obwohl der Pansen-pH im Bereich des Enzymoptimums lag. Die Cellulase (*Trichoderma reesei*) hingegen bewirkte trotz eines pH-Optimums von etwa 5 erhöhte ruminale Abbaubarkeiten, womit der Pansen-pH nicht als alleiniges Kriterium für die Wirkungsfähigkeit exogener Enzymzulagen gesehen werden kann.

4.2.1.3 Postruminale Enzymeffekte

Die Änderung der intestinalen Viskosität des Nahrungsbreis stellt beim Monogaster die Hauptwirkungsweise von Futterenzymen für die Verbesserung tierischer Leistungen dar (BEDFORD, 1993). Auf Grund der erhöhten duodenalen Viskosität der Digesta bei getreidereichen Rationen (MIR et al., 1998) könnten durch Futterenzyme eingeleitete Viskositätsverringerungen die Nährstoffabsorption im Dünndarm von Rindern, welche mit hohem Krafffutteranteil gefüttert werden, verbessern.

HRISTOV et al. (1998a) stellten nach Enzymzulagen auf das Futter bzw. in den Labmagen verabreicht eine Erhöhung der T-Gesamtverdaulichkeit um 1,2 bzw. 1,5 % in Folge einer reduzierten intestinalen Viskosität fest. Dagegen beobachteten SUTTON et al. (2003) tendenziell erhöhte duodenale Viskositäten eine Stunde vor der Fütterung in Folge von Enzymzulagen. Ein gerichteter Enzymeinfluss war jedoch innerhalb der Entnahmeperiode (1 h vor der Fütterung bis 7 h nach der Fütterung) nicht erkennbar. Zudem ist zu beachten, dass die intestinale Viskosität bei Rindern lediglich einen Wert zwischen 1 und 2 cPoise (MIR et al., 1998) aufweist, während beim Geflügel Viskositäten > 400 cPoise (BEDFORD, 1993) erreicht werden. Verbesserte Wachstumsleistungen beim Geflügel in Folge von Enzymapplikationen gehen oft mit zehnfachen intestinalen Viskositätsverringerungen überein (BEDFORD, 1993; GRAHAM, 1996). Daher ist es schwierig, eine verbesserte Nährstoffaufnahme im Dünndarm mit den relativ geringen Viskositätsänderungen, welche bei enzymbehandelten Wiederkäuern beobachtet wurden, zu erklären (RODE et al., 2001).

Auch verbesserte Faser- und Stärkeverdaulichkeiten im Dünndarmbereich in Folge exogener Enzymzulagen werden postuliert. Die dafür nötige Enzymstabilität und die daraus resultierenden intestinalen Aktivitätserhöhungen wurden in den Studien von HRISTOV et al. (1998a) und MORGAVI et al. (2000) bereits angesprochen. SUTTON et al. (2003) stellten eine um 274 % erhöhte postruminale NDF-Verdaulichkeit bei Zulage einer fibrolytischen Enzymmischung auf eine TMR in Bezug zur Kontrollbehandlung fest. Die Gesamtverdaulichkeit wurde jedoch nicht signifikant beeinflusst. BEAUCHEMIN et al. (1998) brachten eine Erhöhung der Gesamtverdaulichkeit bei Milchkühen, welche mit einer gerstebetonten Ration gefüttert wurden, wenigstens teilweise mit einer erhöhten intestinalen Faser- und Stärkeverdaulichkeit in Verbindung. Die Hydrolyse von komplexen Kohlenhydraten durch exogene Enzyme im Dünndarm und die anschließende Absorption von freigesetzten Zuckern würde somit zu einer verbesserten Energie- und Eiweißbilanz der Tiere führen. Diese

Substrate würden dagegen ohne Enzymzulagen unverdaut ausgeschieden oder im Dickdarm fermentiert werden.

Zudem besteht die Möglichkeit, dass exogene Enzyme synergistische Beziehungen mit den Dickdarmmikroorganismen eingehen und dort eine erhöhte Fermentation von Futterbestandteilen bewirken, was wiederum zur Verbesserung der Energieversorgung des Wirtstieres beitragen könnte. Diese Thesen sind jedoch als rein hypothetisch zu sehen und bedürfen weiterer Forschungsarbeiten.

4.2.2 Enzymkonzentrationen und Aktivitäten

Der Einsatz exogener Enzyme bei Wiederkäuer beschränkt sich auf die Verwendung von NSP-spaltenden Enzymen (vorrangig Cellulasen und Xylanasen). In einigen wenigen Arbeiten wurden auch Amylasen zur Verbesserung der Stärkeverdauung und Leistungsparameter bei Schafen getestet (TRICARICO et al., 2007; ROJO et al., 2005; FENG et al., 1996). Dieses eingeschränkte Interesse für Amylasen als Futteradditive für Wiederkäuer kann sicherlich mit dem hohen Krafffuttereinsatz bei Hochleistungstieren und der somit erhöhten Gefahr einer Pansenacidose begründet werden. Lediglich bei einem erhöhten Einsatz von Futtermitteln mit hohem Gehalt an pansenstabiler Stärke kann ein Amylaseeinsatz als sinnvoll angesehen werden, um die Stärkeanflutung in den Dünndarm zu verringern.

In der vorliegenden Arbeit wurden hauptsächlich die NSP-spaltenden Enzyme Cellulase, Xylanase und β -Glucanase auf ihre Wirksamkeit untersucht. In Versuchsreihe 1 kam zudem eine Amylase zum Einsatz. Mit einer Mindestgesamtaktivität von 52000 U/ ml laut Hersteller wies das Enzymprodukt Roxazyme® aus den Versuchsreihen 1 und 2 einen sehr hohen Wert auf. Dagegen enthielten die Produkte Amylase 7b® (120 KNU-S/ g) und Celluclast® (700 EGU/ g) geringe Enzymaktivitäten. Die Enzyme aus Versuchsreihe 3 mit Werten von 100 IU/g (Xylanase *Bacillus subtilis*), 400 U C1/ g (Cellulase *Trichoderma reesei*) und 1000 DXU/ g (Xylanase *Pseudoalteromonas haloplanktis*) zeigten zudem geringere Aktivitäten und befanden sich somit ebenso im unteren Bereich der in der Literatur beschriebenen Enzymaktivitäten.

Dabei ist 1 IU bzw. 1 DXU als die Enzymmenge definiert, welche pro Min ein μ mol Xylan bei einem pH-Wert von 4,5 und einer Temperatur von 30 °C (IU) bzw. bei pH 6,5 und 25 °C (DXU) hydrolysiert. 1 U C1 entspricht der Enzymmenge, welche nötig

ist, um aus Cellulose ein μmol Glucose pro Min bei pH 4,8 und 50 °C zu gewinnen (Herstellerangaben, Fa. Beldem). Diese verschiedenen Einheiten verschlechtern jedoch die Vergleichbarkeit der einzelnen Enzyme in ihrer Aktivität.

Das üblicherweise eingesetzte Substrat für die Bestimmung der Cellulaseaktivität ist Carboxymethylcellulose, welche Endo- β -1,4-Glucanase misst (WOOD und BHAT, 1988). Exoglucanase-Aktivität kann durch den Einsatz kristalliner Cellulose wie Avicel gemessen werden. β -Glucosidase-Aktivität ist determiniert als Freisetzung von Glucose aus Cellobiose oder von p-Nitrophenol aus p-Nitrophenyl- β -D-Glucoside. Die Xylanaseaktivität wird üblicherweise über die Freisetzung reduzierenden Zuckers von Xylan aus z.B. Haferspelze oder Birkenholz bestimmt (BHAT und HAZLEWOOD, 2001). Die Bestimmung der Enzymaktivität muss unter definierten Bedingungen erfolgen. Entscheidende Parameter sind hierbei die Temperatur, der pH-Wert, die Substratkonzentration und Substratart, welche alle die Aktivität beeinflussen. In der Literatur werden die Aktivitäten oft als Millimol reduzierender Zucker pro Millimol Enzym pro Min, jedoch oft bei veränderten pH-Werten (5,3, 5,5, 6,0 und 6,5), Temperaturen (39 und 50 °C) und Zeiten (30 und 60 sec) beschrieben, was die Vergleichbarkeit nicht vereinfacht (KRAUSE et al., 1998; KUNG et al., 2000; RODE et al., 1999; BEAUCHEMIN et al., 1999; COLOMBATTO et al., 2003). In einigen Arbeiten fehlen oft detaillierte Angaben über die Aktivitätsbestimmung der eingesetzten Enzymmischungen und es ist durchaus üblich, auch auf Herstellerangaben zu verweisen (BEAUCHEMIN et al., 2000; FENG et al., 1996; LEWIS et al., 1999; ZHENG et al., 2000; SCHINGOETHE et al., 1999).

In der vorhandenen Literatur werden Enzymzulagen von etwa 1,0 g/ kg T bis 8,0 ml/ kg T beschrieben (YANG et al. 1998; DIJKSTRA et al., 2006). Dabei wird die Supplementierung meist unabhängig von der Aktivität der enthaltenen Enzyme durchgeführt. So zeigte das Enzymgemisch (Konz. 2,50 g/ kg T) in einer Arbeit von BEAUCHEMIN et al. (1999) Cellulase- und Xylanaseaktivitäten von 31,0 und 43,4 U/ ml während in einer Arbeit von LEWIS et al. (1996) das eingesetzte Präparat (Konz. 1,65 ml/ kg T) Aktivitäten von 23300 (Hydroxycellulase), 5800 (Xylanase) und 55 (Cellobiase) IU/ ml aufwies. Der Frage der optimalen Enzymmenge wurde auch in einer Arbeit von SCHINGOETHE et al. (1999) nachgegangen, in welcher Konzentrationen von 0,7, 1,0 und 1,5 ml/ kg T Grundfutter supplementiert wurden. Dabei wurden Aktivitäten in Abhängigkeit der Zulage von 2000 bis 4300 U/ kg T Grundfutter Carboxymethylcellulase (CMCase) und 7500 bis 16050 U/ kg T Grundfutter Xylanase

erreicht. KUNG et al. (2000) fügten dem Grundfutter 2,0 bzw. 5,0 ml/ kg T zu, wodurch sich Aktivitäten von 3500 U CMCCase und 16000 U Xylanase (2,0 ml/ kg T) bzw. 8800 CMCCase und 40000 U Xylanase (5,0 ml/ kg T) pro kg T Grundfutter ergaben. SANCHEZ et al. (1996) und LUCHINI et al. (1997) untersuchten Enzymkomplexe aus Cellulasen und Xylanasen in je drei Konzentrationsstufen bei Milchkühen mit Zulagen von 1,25, 2,5 und 5,0 ml/ kg T bzw. 0,7, 1,2 und 1,7 ml/ kg T. BEAUCHEMIN et al. (2000) berücksichtigten den ökonomischen Aspekt der Zulage mit Kosten von 0,25 US\$ (1,22 ml/ kg T) bzw. 0,75 US\$ (3,67 ml/ kg T) pro Tier und Tag bei einem angenommenen Produktpreis von 15 US\$ pro Liter. Das eingesetzte Enzymsubstrat wies Mindestaktivitäten von 6000 U/ g (Endo-1,3(4)- β -Glucanase) und 2750 U/ g (Endo-1,4- β -Xylanase) auf.

Dagegen wurden in einer Arbeit von ROJO et al. (2005) zwei verschiedene Amylasen mit Aktivitäten von 4190 U/ g (α -Amylase) und 1952 U/ g (Glucoamylase) auf ihre Wirksamkeit bei Schafen überprüft. Es kamen jeweils Konzentrationen von 1,45 und 2,90 g/ kg T Kraftfutter zum Einsatz. Den Effekt von Proteasen (4507 U/ ml) auf die mikrobielle Fermentation untersuchten COLOMBATTO et al. (2003).

In der vorliegenden Arbeit wurden die Enzyme in Konzentrationen von 3,39 g/ kg T (C1) bis 27,7 g/ kg T (R3, XB3, CT3 und XPH3) zugelegt. Dabei lagen die hohen Konzentrationsstufen 3 mit Werten von 16,2 g/ kg T (A3), 13,6 g/ kg T (C3) und 27,7 g/ kg T (R3, XB3, CT3 und XPH3) g/ kg T um das drei- bis fünffache über den in der Literatur beschriebenen üblichen Werten. Diese Konzentrationsstaffelung wurde jedoch bewusst gewählt, da zum einen die Wirkungsfähigkeit der Enzyme ausgereizt werden sollte, zum anderen jedoch auch der Frage eines eventuell negativen bzw. nivellierenden Effekts einer zu hohen Konzentration nachgegangen werden sollte.

Der Effekt einer Überdosierung wurde z.B. in einer Arbeit von BEAUCHEMIN et al. (2000) beschrieben, in welcher die Gesamtverdaulichkeit nur bei einer niedrigen Enzymdosis erhöht wurde. Auch in einer Arbeit von KUNG et al. (2000) konnte nur eine Erhöhung der Milchleistung bei Zugabe der niedrigeren Konzentration (1,0 ml/ kg TMR) in Bezug zur Kontrolle und der hohen Enzymgabe (2,5 ml/ kg TMR) festgestellt werden. Auch bei Mastbullen, welche mit Luzernenheu gefüttert wurden, konnte lediglich bei niedrigeren Dosierungen (0,25 bis 1,0 ml/ kg T) eine Steigerung der täglichen Zunahmen von 24 bis 30 % beobachtet werden, während höhere Enzymlevels (2,0 und 4,0 ml/ kg T) keinen Effekt erzielten. Dagegen wurde durch die Zugabe der hohen Konzentration (4,0 ml/ kg T) auf Wiesen-Lieschgrasheu eine

Erhöhung der täglichen Zunahmen um 36 % ermittelt (BEAUCHEMIN et al., 1995). Auch SUTTON et al. (2003) erzielten bei einigen Enzymmischungen die besten Ergebnisse bei Zulage geringer Konzentrationen (0,04 und 0,20 g/ kg T). Andere Enzymprodukte hingegen zeigten lediglich bei den höchsten beprobten Dosierungen (0,60 und 1,20 g/ kg T) positive Effekte. Diese Studien verdeutlichen, dass eine erhöhte Enzymdosierung auch weniger effektiv sein kann als geringere Konzentrationen.

Enzymprodukte für Wiederkäuerrationen stammen von Pilzen (meist von *Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*) und Bakterien (meist *Bacillus spp.*) (PENDLETON, 2000). Die Arten und die Aktivitäten der gewonnenen Enzyme sind jedoch in starkem Maße abhängig vom selektierten Stamm, vom Wachstumssubstrat und den benutzten Kulturbedingungen (CONSIDINE und COUGHLAN, 1989; GASHE, 1992; LEE et. al., 1998), wodurch die beschriebene Varianz erklärt werden kann. Über große Aktivitätsunterschiede zwischen einzelnen Enzymprodukten (n=23) berichteten auch EUN und BEAUCHEMIN et al. (2007). Zudem besteht keine Mindestanforderung an die Enzymaktivität, damit ein Produkt als Futterenzym zugelassen wird. Somit ist es schwierig, kommerziell zwischen „wahren“ Enzymprodukten und Produkten mit sehr geringen Aktivitäten zu unterscheiden (BEAUCHEMIN et al., 2003). Kommerzielle Enzymprodukte sind für gewöhnlich durch ein oder zwei Enzymaktivitäten, wie z.B. Amylase, Cellulase oder Xylanase, standardisiert. Jedoch weisen viele Enzymprodukte Sekundäraktivitäten auf, welche selten gemessen und deklariert werden. Die Diversität an Enzymaktivitäten innerhalb eines Enzymproduktes erweist sich jedoch wahrscheinlich als günstig, da somit ein Präparat eine weite Substratauswahl besitzt und mehrere Angriffsorte hat (RODE et al., 2001). Einen Überblick über gemessene Enzymaktivitäten in einigen kommerziell verfügbaren Produkten gibt Tabelle 62. Dabei waren keine erkennbaren Beziehungen zwischen der Xylanase- oder Cellulaseaktivität und anderen gemessenen Aktivitäten erkennbar. Eine standardisierte Deklaration mit Angabe sämtlicher Enzymaktivitäten und eine einheitliche Aktivitätsmessung würden sicherlich zu einem besseren Verständnis der einzelnen Präparate beitragen, was sich wiederum positiv auf die Erforschung der Wirkungsweise von Futterenzymen auswirken könnte. Weitere Details zur Enzymologie von Cellulasen und Xylanasen sind in Arbeiten von GHOSE (1987), WOOD und BHAT (1988), BHAT und HAZLEWOOD (2001) und MCCLEARY (2001) beschrieben.

Tab. 62: Zellwandabbauende Enzymaktivitäten innerhalb kommerzieller Cellulase- und Xylanaseprodukte (nach RODE et al., 2001)

EC-Nummer ¹	Offizielle Bezeichnung ²	Alternative Bezeichnung ³
Cellulasen		
3.2.1.4	Cellulase	Endoglucanase; Endo-1,4-beta-glucanase; Carboxymethylcellulase
3.2.1.6	Endo-1,3(4)-beta-glucanase	Endo-1,4-beta-glucanase Endo-1,3-beta-glucanase
3.2.1.21	Beta-glucosidase	Gentobiose; Cellobiose; Amygdalase
3.2.1.39	Glucan endo-1,3-beta-D-glucosidase	Endo-1,3-beta-D-glucanase
3.2.1.73	Licheninase	Beta-Glucanase
3.2.1.74	Glucan 1,4-beta-glucosidase	Cellobiose; Exo-1,4-beta-glucosidase
3.2.1.91	Cellulose 1,4-beta-cellobiosidase	Exoglucanase; Exocellobiohydrolase
Xylanasen		
3.2.1.8	Endo-1,4-beta-xylanase	1,4-beta-D-xylan xylanohydrolase
3.2.1.32	Xylan endo-1,3-beta-xylosidase	Xylanase; Endo-1,3-beta-xylanase
3.2.1.37	Xylan 1,4-beta-xylosidase	Beta-xylosidase; 1,4-beta-D-xylan xylohydrolase; Xylobiose
3.2.1.55	Alpha-L-arabinofuranosidase	Arabinosidase
3.2.1.72	Xylan 1,3-beta-xylosidase	Exo-1,3-beta-xylosidase
3.2.1.89	Arabinogalactan endo-1,4-beta-galactosidase	Arabinogalactanase
3.2.1.90	Arabinogalactan endo-1,3-beta-galactosidase	Arabinogalactanase
3.2.1.120	Oligoxyloglucan beta glycosidase	
3.2.1.136	Glucuronarabinoxylan beta-xylanase	Feraxan endoxylanase
Andere		
3.1.1.1	Carboxylesterase	Cinnamoyl-esterase; Feruloyl-esterase
3.1.1.6	Acetyl-esterase	Rhamnogalacturonan acetyl-esterase; Pectin acetyl-esterase
3.1.1.11	Pectin-esterase	Pectin methylesterase; Pectin methoxylase
3.2.1.15	Polygalacturonase	Pectin depolymerase; Pectinase
4.2.2.10	Pectinlyase	

¹Enzyme Commission Number²Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry und Molecular Biology (IUBMB)³von ExPASy Molecular Biology Server, Swiss Institute of Bioinformatics (<http://www.wxasy.ch/>)

4.2.3 Substrat und Zeitpunkt der Enzymzulage

Die Zugabe fibrolytischer Enzyme in flüssiger Form auf Futtermittel vor der Fütterung kann positiven Einfluss auf Leistungsparameter haben, was Studien von RODE et al. (1999), SCHINGOETHE et al. (1999), KUNG et al. (2000) und YANG et al. (2000) belegen. Im Vergleich dazu zeigte sich die Infusion von Enzymen in den Pansen als nicht effektiv (LEWIS et al., 1996; McALLISTER et al., 1999; SUTTON et al., 2001). Die Verbindung der Enzyme mit Futterpartikel bewirkt wohl einen Abbau der pflanzlichen Faser vor der Futteraufnahme und/ oder eine verbesserte Bindung der Enzyme an das Futter, was die Widerstandsfähigkeit der Enzyme gegenüber dem proteolytischen Abbau im Pansen erhöht (BEAUCHEMIN et al., 2003).

Scheinbar besteht nur eine geringe bis keine Anforderung für die Reaktionsphase oder Inkubationszeit zwischen Enzymzugabe und Fütterung. LEWIS et al. (1996) beobachtete eine erhöhte NDF-Verdaulichkeit bei Enzymzugabe auf das verfütterte Heu, jedoch wurden keine Unterschiede zwischen der Supplementierung unmittelbar vor der Fütterung und einer 24stündigen Inkubationsdauer beobachtet. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in *in vitro*-Studien erzielt (COLOMBATTO, 2000).

Enzyme wurden appliziert auf TMRs (SUTTON et al., 2003; HIGGINBOTHAM et al., 1996; BEAUCHEMIN et al., 1999; PHIPPS et al., 2000b; YANG et al., 1999), Heu (BEAUCHEMIN et al., 1995; LEWIS et al., 1996; YANG et al., 1999), silierte Futtermittel (BEAUCHEMIN et al., 1995; PHIPPS et al., 2000a), Kraftfuttermittel (RODE et al., 1999; PHIPPS et al., 2000b; YANG et al., 2000; SUTTON et al., 2003), auf Futterzusatzstoffe (BOWMAN, 2001) oder Premixe (BOWMAN, 2001). Eine bessere Effektivität exogener Enzyme ist auf Grund des höheren Wassergehaltes bei „feuchten“ Futtermitteln wie Silagen zu erwarten. Die Wasserverfügbarkeit für die Hydrolyse löslichen Zuckers von komplexen Polymeren ist als ein grundlegendes biochemisches Prinzip anzusehen. Zudem befindet sich der pH-Wert von Silagen in der Regel in der Nähe des Optimums für Enzyme, welche aus Pilzkulturen gewonnen werden (BEAUCHEMIN et al., 2003). Jedoch zeigten in der Praxis einige exogene Enzyme eine höhere Effektivität bei einer Applikation in flüssiger Form auf trockene Futtermittel. FENG et al. (1996) applizierten eine Enzymlösung direkt auf Gras und beobachteten keinen Effekt, wenn die Zugabe auf frisches oder angewelktes Gras erfolgte. Bei der Supplementierung auf getrocknetes Gras hingegen wurde eine Erhöhung der

Trockenmasse- und Faserverdaulichkeit festgestellt. Ebenso berichteten YANG et al. (2000) über eine erhöhte Milchleistung und Verdaulichkeit der Ration bei Zugabe der Enzyme auf Krafftutter, während kein Effekt bei direkter Zugabe auf die TMR festgestellt werden konnte. SUTTON et al. (2003) favorisieren hingegen eine Supplementierung über die TMR. Dagegen wurden bei PHIPPS et al. (2000b) keine Unterschiede zwischen der Zugabe eines Enzymprodukts auf das Krafftutter oder die TMR beobachtet. Jedoch zeigte sich das Enzymprodukt bei beiden Zulageformen als nicht effektiv.

In einer Arbeit von YANG et al. (1999) wurden keine Unterschiede zwischen der Enzymzugabe auf trockenes Grundfutter oder auf trockenes Grundfutter und Krafftutter beobachtet. Andere Autoren berichteten über einen positiven Effekt durch die Zugabe auf das Krafftutter (BEAUCHEMIN et al., 1997; IWAASA et al., 1997; RODE et al., 1999; YANG et al., 2000). BOWMAN (2001) untersuchte den Einfluss eines Enzymprodukts in Abhängigkeit der Zulage auf verschiedene Bestandteile einer TMR. Die Zugabe erfolgte einmal auf das Krafftutter (45 % der TMR), einmal auf den Futterzusatz (4 % der TMR) und einmal auf eine Vormischung (0,2 % der TMR). Die Enzymmenge pro Kuh und Tag war bei allen Behandlungsvarianten identisch, jedoch zeigte sich nur bei der Zugabe über das Krafftutter eine Erhöhung der NDF-Gesamtverdaulichkeit von 44,3 auf 55,6 %. Im *in vitro*-Versuch wurde eine Erhöhung der T-Abbaubarkeit der TMR nach 12 h Inkubationsdauer um 15 % bei der Krafftutterzulage beobachtet. Die Zugabe über die Vormischung (0,2 % der TMR) bewirkte eine Verbesserung um 17 %. Nach 48 h Inkubation wurde lediglich bei der Behandlung der Vormischung eine erhöhte T-Verdaulichkeit im Vergleich zur Kontrolle ermittelt. Die Gründe für die geringe Wirkungsfähigkeit *in vivo* der Zugabe der Enzyme auf einen quantitativ geringen Anteil des Futters sind nicht bekannt. BEAUCHEMIN et al. (1999b) plädieren jedoch für eine Enzymapplikation auf einen quantitativ hohen Anteil des Futters, wodurch eine höhere Beständigkeit der Enzyme im Pansen ermöglicht werden könnte. Die Zugabe auf einen geringen Anteil der Ration hingegen könnte zu einer schnellen Passage der Enzyme aus dem Pansen führen, was im *in vitro*-Versuch nicht berücksichtigt wird, und somit den ruminalen Effekt verringern.

Die geringere Wirkungsfähigkeit von exogenen Enzymen, supplementiert auf silierte Futtermittel, kann nach BEAUCHEMIN et al. (2003) mit hemmenden Verbindungen in fermentierten Futtermitteln in Verbindung gebracht werden. NSEREKO et al. (2000) berichteten über Verbindungen in Gerste-Ganzpflanzensilage, welche die Endo-1,4- β -Xylanaseaktivität eines Enzymproduktes von *T. longibrachiatum* um 23 bis 50 % hemmten, obwohl die Cellulaseaktivität nicht beeinträchtigt wurde. Zudem kann die Applikation exogener Enzyme zu einer Verringerung der aeroben Stabilität führen. Dabei wird das Wachstum der epiphytischen Biozönose durch löslichen Zucker, freigesetzt durch die Enzymbehandlung, stimuliert. Dies kann zu einem Abbau des Futterwertes der Silage führen, falls die Zeit zwischen Zugabe und Fütterung ausreichend lang ist (WANG et al, 2002).

Zudem gilt es die Frage zu diskutieren, zu welchem Leistungsstadium die Enzymzugabe erfolgen soll. Positive Effekte exogener Enzyme sind wohl unter Bedingungen zu erwarten, in welchen die Faserverdaulichkeit beeinträchtigt ist bzw. in welchen der Energiegehalt der erstlimitierende Faktor der Ration darstellt. Hochleistungskühe und Mastbullen haben einen hohen Bedarf an verfügbarerer Energie um den Anforderungen für die Milch- bzw. Fleischproduktion nachzukommen. Eine Futteraufnahme, welche der Aufnahme für den Erhaltungsbedarf um das vierfache übersteigt, zeigt sich bei heutigen üblichen Milchleistungen von über 9000 kg Milch pro Kuh und Jahr als nicht ungewöhnlich. Unter diesen hohen und kraftfutterreichen Fütterungsniveaus ist die Faserverdauung auf Grund des niedrigen ruminalen pH-Wertes und der hohen Passagerate vermindert (BEAUCHEMIN et al., 2003). Das NRC (1989) unterstellt eine vierprozentige Verdaulichkeitsreduktion für jedes Vielfache über dem Erhaltungsbedarf liegende Futteraufnahme.

In der vorliegenden Arbeit wurde mit trockenstehenden Kühen gearbeitet, welche mit einer mittleren Futteraufnahme von 6,2 kg T pro Kuh und Tag gemäß dem Erhaltungsbedarf versorgt wurden, was etwa ein Viertel der Aufnahme von Hochleistungskühen entspricht und somit als nicht optimal zu sehen ist. Bei der Berechnung der effektiven ruminalen Abbaubarkeiten konnten durch die Annahme unterschiedlicher Passageraten (2, 4, 6 und 8 %/ h) verschiedene Fütterungsniveaus unterstellt werden. Dabei können nach AFRC (1993) bei Passageraten von 2, 4 und 6 %/ h theoretische T-Futteraufnahmen von 8-9, 12-14 und 16-17 kg pro Tier und Tag angesetzt werden. Die Passagerate von 8 %/ h entspricht dem Fütterungsniveau

einer Milchkuh von ≥ 30 kg Milch pro Tag bzw. einer mittleren täglichen Futteraufnahme von 19-20 kg T. Da exogene Enzyme zur Schließung der Lücke zwischen potentiellen und gegebenen Tierleistungen beitragen sollen, scheinen Passageraten von 6 %/ h bei Grundfuttermitteln bzw. 8 %/ h bei Kraftfuttermitteln als richtiges und sinnvolles Maß für die Beurteilung der Enzymwirkungsfähigkeit bei den effektiven ruminalen T-Abbaubarkeiten zu sein.

Der Einfluss des Leistungs- bzw. Fütterungsniveaus auf die Enzymeffektivität ist in einer Arbeit von YANG et al. (2000) beschrieben, in welcher die Enzyme nur bei Milchkühen mit geringen Gesamtverdaulichkeiten (63,9 % für T, 31,8 % für NDF) eine Verbesserung der Futterverdauung bewirkten nicht aber bei Schafen, welche auf Grund geringerer Futteraufnahmen höhere Verdaulichkeiten (77,1 % für T, 49,8 % für NDF) aufwiesen. Auch in Arbeiten von NUSSIO et al. (1997) und SCHINGOETHE et al. (1999) zeigten sich bessere Effekte durch die Zufuhr von Enzymen bei Milchkühen, welche sich in einem frühen Laktationsstadium befanden, als bei Kühen in der Spätlaktation. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass exogene Enzyme nur bei nicht Erreichen der potentiellen Verdaulichkeit eine Verbesserung der Futterverwertung bzw. der ruminalen Futterabbaubarkeit bewirken und somit bei Wiederkäuer, welche gemäß dem Erhaltungsbedarf gefüttert werden, positive Ergebnisse schwerer zu erreichen sind (BEAUCHEMIN et al., 2003).

4.3 Einfluss exogener Enzyme auf Abbau- und Leistungsparameter

4.3.1 Einfluss auf die ruminale Abbaubarkeit *in situ*

Die effektive ruminale Abbaubarkeit wird unter der Annahme verschiedener Passageraten aus den *in sacco*-Parametern a, b, c und lag time errechnet, welche aus den Werten des T-Verlustes nach unterschiedlichen Inkubationszeiten auf Basis des Standard-Algorithmus nach MARQUARDT (1963) geschätzt wurden. In diesem Abschnitt soll der Ansatzort bzw. der Wirkungsbereich der eingesetzten Enzyme für jedes Futtermittel näher betrachtet werden. Dabei wird in den Tabellen 63 und 64 beim T-Verlust die maximale Inkubationszeit angegeben, bis zu welcher ein signifikanter Enzymeffekt in Bezug zur Kontrolle festzustellen war. Der Wirkungsort im Futtermittel wird durch die Betrachtung der *in sacco*-Parameter näher charakterisiert. Der Einfluss der Passagerate und des damit unterstellten

Fütterungsniveaus wird durch Angabe der effektiven ruminalen Abbaubarkeit wiedergegeben, indem die niedrigste Passagerate aufgezeigt wird, in welcher signifikante Unterschiede zur Kontrollbehandlung zu verzeichnen waren. Die dargestellten Ergebnisse verdeutlichen, dass für jedes Futtermittel und für jedes Enzymprodukt unterschiedliche Einsatzbedingungen und Wirkungsweisen vorliegen. Verbesserungen im T-Verlust bzw. in der ruminalen Abbaubarkeit konnten vor allem in den ersten acht Inkubationsstunden und bei Passageraten ab 6 %/ h durch Enzymzulagen festgestellt werden. Zudem zeichnete sich bei den Krafftuttermitteln vorrangig eine Erhöhung der schnell abbaubaren Fraktion a und der Abbaurrate c ab. Die Grundfuttermittel wurden dagegen in erster Linie durch die Verringerung der lag time durch die Enzymzulagen in ihrer Abbaubarkeit positiv beeinflusst.

Bei Betrachtung der spezifischen Aktivitäten innerhalb der verschiedenen Enzymprodukte fällt auf, dass die Krafftuttermittel insbesondere beim Einsatz xylanasehaltiger Produkte, die Grundfuttermittel durch die Zulage cellulasehaltiger Präparate positiv beeinflusst wurden. Dieser Zustand könnte auch die Wirkungsfähigkeit von Roxazyme® (Xylanase:Cellulase-Verhältnis von 1:1) bei beiden Futterarten erklären. Über einen positiven Zusammenhang zwischen Endoglucanaseaktivität und Faserverdaulichkeit von Luzerne und Maissilage berichteten auch EUN et al. (2007).

Der spezifische Einfluss des Futtermittels und somit eine gewisse Substratabhängigkeit des verwendeten Enzymproduktes konnte zudem nachgewiesen werden. Diese Substratspezifität von Enzympräparaten bestätigten auch BEAUCHEMIN et al. (2003), während ELWAKEEL et al. (2007) in ihrer Studie keinen Zusammenhang zwischen Futtermittelart und Enzymwirkung feststellen konnten.

Tab. 63: Überblick über Enzymeffekte auf T-Verlust, *in sacco*-Parameter und effektive ruminale T-Abbaubarkeit der untersuchten Krafftuttermittel *in situ* innerhalb der einzelnen Versuche

	T-Verlust		<i>in sacco</i> -Parameter		Effekt. Abbaubarkeit	
	Inkubationszeit ¹	Behandlung ²	Fraktion ³	Behandlung ²	Passagerate ⁴	Behandlung ²
Gerste						
V1-2	2 h	R3	c ↑	R3	k=0,06	R3
V2-1	4 h	R3	c ↑	R3	k=0,06	R3
V3-1	2 h	XB3	c ↑	XB3	-	
V3-2	0 h	XB1/ XB2/ XB3				
Biertreber						
V1-2	48 h	R3	t _b ↓	C2/ R3	k=0,02	R3
V2-1	16 h	R2	a ↑ b ↓ c ↑ d ↓	R3 R2/ R3 R2/ R3 R3	k=0,02	R2
V3-1	2 h	XB3	-		-	
V3-2	2 h	XB1/ XB2				
Getreideschlempe						
V2-1	16 h	R2	a ↑ b ↓ d ↓	R2/ R3 R2/ R3 R2	k=0,06	R3
V3-1	2 h	XB3	a ↑	XB3	-	
V3-2	2 h	XB1/ XB2				
Körnermais						
V1-2	8 h	A2	b ↑	C2	k=0,06	A2
Trockenschnitzel						
V1-2	-		-		-	
Raps-/ Sonnenblumenextraktionsschrot						
V2-1	-		-		-	

¹max. Inkubationszeit, bis zu welcher ein signifikanter Enzymeffekt in Bezug zur Kontrolle beobachtet wurde

²Enzymbehandlungen, bei welchen der Effekt auftrat

R=Roxazyme® C=Celluclast® A=Amylase 7b® XB=Xylanase (*Bacillus subtilis*)

Nachfolgende Nummern stehen für die entsprechenden Konzentrationsstufen 1 bis 3

³Fraktion der potentiellen Abbaubarkeit, welche durch die Behandlung beeinflusst wurde

(↑ Fraktion stieg in Bezug zur Kontrolle ↓ Fraktion sank in Bezug zur Kontrolle - kein Effekt)

⁴früheste Passagerate, ab welcher ein signifikanter Enzymeffekt in Bezug zur Kontrolle beobachtet wurde

Tab. 64: Überblick über Enzymeffekte auf T-Verlust, *in sacco*-Parameter und effektive ruminale T-Abbaubarkeit der untersuchten Grundfuttermittel bzw. TMRs *in situ* innerhalb der einzelnen Versuche

	T-Verlust		<i>in sacco</i> -Parameter		Effekt. Abbaubarkeit	
	Inkubationszeit ¹	Behandlung ²	Fraktion ³	Behandlung ²	Passagerate ⁴	Behandlung ²
Maissilage						
V1-1	8 h	C2/ C3	a ↑	C3/ R2/ R3	k=0,06	C1/ C2/ C3
	4 h	R3	c ↓	C3	k=0,02	R3
			t ₀ ↓	R3		
V1-2	24 h	R3	c ↑	R3	k=0,06	R3
V2-1	8 h	R2	t ₀ ↓	R2/ R3	-	
V3-1	8 h	XB3/ CT3	t ₀ ↓	CT3	-	
V3-2	4 h	CT2/ CT3				
Grassilage						
V1-2	-		b ↓	C2	k=0,04	R3
			t ₀ ↓	R3		
V2-1	4 h	R2/ R3	t ₀ ↓	R2/ R3	k=0,02	R3
V3-1	8 h	CT3	-		k=0,02	CT3
V3-2	4 h	CT2/ CT3				
Heu						
V1-2	-		-		-	
V2-1	2 h	K	t ₀ ↑	R3	-	
V3-1	8 h	XB3/ CT3	-		k=0,02	XB3/ CT3
V3-2	2 h	CT2/ CT3				
TMR						
V1-2	-		-		-	
V2-1	4 h	R3	a ↑/ b ↓	R3	-	

¹max. Inkubationszeit, bis zu welcher ein signifikanter Enzymeffekt in Bezug zur Kontrolle beobachtet wurde

²Enzymbehandlungen, bei welchen der Effekt auftrat

K= Kontrolle R=Roxazyme® C=Celluclast® XB=Xylanase (*Bacillus subtilis*)

CT=Cellulase (*Trichoderma reesei*)

Nachfolgende Nummern stehen für die entsprechenden Konzentrationsstufen 1 bis 3

³Fraktion der potentiellen Abbaubarkeit, welche durch die Behandlung beeinflusst wurde

(↑ Fraktion stieg in Bezug zur Kontrolle ↓ Fraktion sank in Bezug zur Kontrolle - kein Effekt)

⁴früheste Passagerate, ab welcher ein signifikanter Enzymeffekt in Bezug zur Kontrolle beobachtet wurde

Ein Vergleich der in dieser Arbeit ermittelten Daten mit Literaturwerten erweist sich jedoch auf Grund verschiedener Applikationsformen, Konzentrationen, Auswertungsmethoden und vor allem auf Grund der unterschiedlichen inkubierten Futtermittel als äußerst schwierig, so dass im Folgenden absolute Zahlen sehr eingeschränkt vergleichbar sind. Besser geeignet sind daher wohl Richtungsvergleiche, wie in den Tabellen 63 und 64 bereits dargestellt.

LEWIS et al. (1996) untersuchten den Einfluss der Applikationszeit auf die ruminale Abbaubarkeit von Heu mittels *in situ*-Technik. Die Enzymgabe (Gemisch aus Cellulase und Xylanase, 1,65 ml/ kg T) erfolgte (1) 24 h vor der Fütterung auf das Grundfutter (Heu) (F-24), (2) unmittelbar vor der Fütterung auf das Grundfutter (F-0), (3) auf die verfütterte Gerste unmittelbar vor der Fütterung (B-0) und (4) direkt über die Pansenfistel 2 h nach der Fütterung (RI). Die Applikation erfolgte zum einen sowohl über das Futter als auch über das inkubierte Heu (AFH), zum anderen nur über das Futter (AF). Dabei wurden beim nicht behandeltem Heu (AF) keine Unterschiede im T- und NDF-Verlust zwischen den Behandlungen ermittelt. Dagegen zeigten die enzymbehandelten Substrate (AFH) im Mittel signifikant geringere T- und NDF-Verluste nach 8, 16, und 24 Inkubationsstunden in Bezug zur Kontrollbehandlung. Dieser negative Effekt der Enzyme auf die T- bzw. NDF-Verluste konnten bis auf Heu in Versuch V2-1 (2 h Inkubation) in der vorliegenden Arbeit bei keinem Futtermittel beobachtet werden. Ein Effekt bis max. 24 h Inkubationsdauer konnte zudem nur bei Maissilage und Biertreber, nicht aber bei Grassubstraten (max. 8 h) festgestellt werden. Die unterschiedlichen Ergebnisse in Abhängigkeit der Applikationsform (AFH bzw. AF) versuchten die Autoren durch nicht äquivalente Zugabemengen zu erklären. Weiterhin zeigte sich im Vergleich der Enzymbehandlungen eine Applikation über das Kraftfutter (Gerste) als effektiver, was mit der Möglichkeit einer schnelleren Verfügbarkeit fermentierbarer Kohlenhydrate und mit einem damit erhöhtem Mikrobewachstum begründet wurde. Eine Infusion der Enzyme wurde auf Grund der fehlenden Substratbindung als nicht wirksam deklariert, was auch in einer Arbeit von YANG et al. (1999) festgestellt wurde. KRUEGER und ADESOGAN (2007) untersuchten den Effekt verschiedener fibrolytischer Enzymmischungen (Konz.: 5,0 g/ kg T) auf die T- und NDF-Abbaubarkeit von Heu *in vitro*. Dabei konnten die Autoren keine Enzymeffekte nach 24 und 96stündiger Inkubationsdauer feststellen. Jedoch zeigte sich bei allen Enzympräparaten nach

96stündiger Inkubationsdauer eine signifikante Verringerung der lag time in Bezug zur Kontrollbehandlung. GIRALDO et al. (2007b) konnten durch die Zulage verschiedener fibrolytischer Enzyme (40 und 80 U/ g T) auf ein Gemisch aus Heu und Krafffutter bei allen Enzymbehandlungen signifikant erhöhte T-Abbaubarkeiten ($P=0,048$ bis $P<0,001$) nach 8 h Inkubation *in vitro* in Bezug zur Kontrolle ermitteln. Auch nach 24stündiger Inkubationsdauer wiesen die Enzymbehandlungen signifikant höhere T-Abbaubarkeiten ($P=0,044$ bis $P=0,001$) auf; der Enzymeffekt war jedoch im Vergleich zur achtstündigen Inkubation verringert.

FENG et al. (1996) untersuchten in ihrer Arbeit drei Enzympräparate (vorrangig Cellulase und Xylanase) in zwei Konzentrationen (2,10 und 5,26 ml/ kg T) *in situ* und *in vitro* bei Gras unterschiedlicher Feuchtigkeitsstufen. Zum einen erfolgte die Applikation lediglich auf die inkubierten Substrate (T1), zum anderen sowohl auf das Futter als auch auf das Inkubationsmaterial (T2), was somit dem gleichen Schema der vorliegenden Arbeit entspricht. Dabei zeigte sich weder im *in situ* noch im *in vitro* Versuch von T1 ein Einfluss der Enzymkonzentration. Zudem konnten nur im *in vitro*-Versuch Unterschiede zwischen den Enzymprodukten, nicht aber im *in situ*-Versuch festgestellt werden. Interaktionen zwischen Feuchtigkeitsgehalt des inkubierten Grases und Enzymprodukt zeigten sich lediglich im *in vitro*-Versuch. Signifikant erhöhte T- und NDF-Verluste in Bezug zur Kontrolle wurden jeweils bei je einem Enzymprodukt bei je einer Feuchtigkeitsstufe (getrocknet bzw. angewelkt) festgestellt. Andere Enzymbehandlungen zeigten sich dagegen als nicht effektiv. Auch im zweiten Versuch (T2) zeigte sich nur die Zulage eines Enzymproduktes auf getrocknetes Gras als effizient, wohingegen die Zugabe während der Ernte keine bis negative Effekte im Vergleich zur Kontrolle zur Folge hatte. Eine Erhöhung des T-Verlustes wurde nach 24, 32 und 48 h, des NDF-Verlustes nach 24 h Inkubation ermittelt.

Dagegen stellten Yang et al. (1999) einen erhöhten T-Verlust *in situ* bei enzymbehandeltem (Konz.: 2,0 g/ kg T, Gemisch aus Cellulase und Xylanase) Luzernenheu von 3 bis 24 h Inkubation und tendenziell von 6 bis 24 h bei Applikation von 1,0 g/ kg T fest. Diese Wirkungsspanne ist durchaus mit der in dieser Arbeit beschriebenen vergleichbar. Auch eine signifikante Erhöhung der schnell abbaubaren Fraktion a wurde bei einer Enzymzulage von 2,0 g/ kg T festgestellt, was

in der vorliegenden Arbeit ebenso bei den Futtermitteln Biertreber, Getreideschlempe, Maissilage und TMR beobachtet werden konnte. Zudem wurde eine signifikante Verringerung der abbaubaren, aber nicht löslichen Fraktion b festgestellt. Dies konnte auch bei Futtermitteln der vorliegenden Arbeit (Biertreber, Getreideschlempe, Grassilage und TMR) berechnet werden. Tendenziell konnten die Autoren eine Erhöhung der effektiven ruminalen Abbaubarkeit bei einer angenommenen Passagerate von 6 %/ h im Vergleich zur Kontrolle ermitteln. Über einen erhöhten T-Verlust *in situ* von Luzernen- und Weidelgrasheu berichteten auch PINOS-RODRIGUEZ et al. (2002) nach 3, 6 und 24 h Inkubation in Folge einer Enzymzulage. Die Abhängigkeit von Dauer der Inkubation in Pansensaft und Enzymart auf die Verbesserung der NDF-Abbaubarkeit von Luzernenheu *in vitro* beschrieben ebenso EUN et al. (2007).

Dagegen konnten WANG et al. (2001) bei Gerste nach 48 h Inkubationsdauer in einem Rusitec Fermenter erhöhte T-Verluste in Folge von Enzymzulagen beobachten. Bei Luzernenheu ergaben sich keine Enzymeffekte. Eine lineare Erhöhung bei der Fermentation von Luzernenstängeln in Abhängigkeit der Enzymkonzentration stellten COLOMBATTO et al. (2007) bis max. 12 h (Gasbildung) bzw. 19 h (Abbau der organischen Masse) *in vitro* fest, während bei längeren Inkubationszeiten kein Enzymeffekt mehr zu beobachten war. Über erhöhte Gasbildungen und Abbaubarkeiten der organischen Masse von Luzernenheu in Folge von Enzymzulagen (Endocellulase- bzw. Xylanaseprodukte, n=23; Konz.: 1 U/ g T) berichteten auch EUN und BEAUCHEMIN (2007) nach 18 h Inkubationsdauer *in vitro*.

DIJKSTRA et al. (2006) untersuchten in ihrer Arbeit mit pansenfistulierten Kühen den Effekt eines Enzymproduktes (Cellulase- und Xylanaseaktivität) in zwei verschiedenen Konzentrationen (4,0 und 8,0 ml/ kg T) auf die ruminale Abbaubarkeit von Mais-, Gras- und Luzernensilage unter Berücksichtigung der Applikationszeit der Enzyme auf die Substrate (0, 12, 24 h). Dabei stellten die Autoren bei Mais- und Grassilage zwischen Enzymkonzentration und der Abbaurrate c einen positiven, bei Luzernensilage hingegen einen negativen Bezug fest. Weiterhin konnte nur bei Grassilage eine erhöhte Abbaurrate (c) mit steigender Behandlungszeit bzw. Vorinkubation der Enzyme beobachtet werden. Die effektive Abbaubarkeit ($k=0,04$)

und die nicht lösliche, aber abbaubare Fraktion b wurden nicht durch die Enzymzulagen beeinflusst.

BEAUCHEMIN et al. (2000) konnten in ihrem *in situ*-Versuch bei keiner der zwei eingesetzten Enzymzulagen (1,22 bzw. 3,67 ml/ kg T) auf TMR Enzymeffekte beobachten. Dagegen berichteten HRISTOV et al. (1998) über eine Erhöhung der löslichen und schnell abbaubaren Fraktion a (29,6 vs. 24,0 %) in Folge einer Enzymzulage auf eine gerstebasierenden TMR. Die effektive ruminale T-Abbaubarkeit (56,6 vs. 55,3 %) bei einer Passagerate von 5 %/ h und die Fraktion b (56,6 vs. 56,2 %) zeigten sich nicht beeinflusst. Die Abbaurate c wurde tendenziell durch die Enzymzulage verringert (5,1 vs. 6,4 %/ h). Diese Erhöhung der Fraktion a und der nivellierende Effekt auf die ruminale Abbaubarkeit konnte auch bei der in Versuch V2-1 inkubierten TMR in Folge der Roxazymezulage festgestellt werden. Erhöhte T-, NDF- und ADF-Verluste einer TMR in Folge von Cellulasezulagen ($P < 0,01$) stellten GIRALDO et al. (2007a) nach 6 und 24 h Inkubation in einem Rusitec Fermenter fest, während nach 48stündiger Inkubationsdauer keine Behandlungsunterschiede ermittelt wurden. Dies bestätigt wiederum, wie auch bei der TMR aus Versuch V2-1 ermittelt, einen Enzymeffekt vorrangig im Bereich der ersten Inkubationsstunden.

Die dargestellten Ergebnisse deuten verstärkt auf eine Enzymwirkung innerhalb der ersten 24 Stunden hin, welche jedoch in starkem Masse vom eingesetzten Enzympräparat und Futtermittel abhängig ist, was somit die in der vorliegenden Arbeit erzielten Kenntnisse bestätigt. Ein entsprechendes Leistungs- bzw. Fütterungsniveau, welches anhand der theoretischen Passageraten bei der Berechnung der effektiven T-Abbaubarkeiten simuliert werden konnte, verstärkt zudem die Enzymeffekte. Dies bekräftigt somit die Aussagen von YANG et al. (2000) NUSSIO et al. (1997) und SCHINGOETHE et al. (1999), welche einen Enzymeinsatz im ersten Laktationsdrittel postulieren.

Bei den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Enzymen handelte es sich mit Ausnahme von Amylase 7b® vorrangig um die fibrolytischen Enzyme Cellulase und Xylanase. Inwieweit diese Enzyme den Abbau von Zellwandbestandteilen im Pansen beeinflussen, wurde anhand des NDF-Verlustes nach 4 bzw. 8 h Inkubationsdauer ermittelt. Es stellt sich jedoch zudem die Frage, inwieweit die verwendeten fibrolytischen Enzyme den Abbau von Zellinhaltsstoffen beeinflussen. Dies wurde anhand der Berechnung des T-Verlustes nach Abzug der NDF näher betrachtet (Tab. 65 und 66). Mit Hilfe der NDF-Analytik nach GOERING und VAN SOEST (1970) werden die Strukturkohlenhydrate Hemicellulose, Cellulose und Lignin erfasst und umfassen somit die Zellwandbestandteile. Durch den Abzug der NDF von der Trockenmasse verbleiben neben einem nicht definierten organischen Rest Rohasche, Rohprotein, Rohfett, Stärke und Zucker, welche als „Zellinhaltsstoffe“ zusammengefasst werden können (JEROCH et al., 1999). Dabei konnten vor allem durch die Zulage von Roxazyme® in der Konzentrationsstufe 3 (27,7 g/ kg T) in Versuch V2-1 signifikant erhöhte Verluste an Zellinhaltsstoffen nach 4 h Inkubationsdauer in Bezug zur Kontrolle ermittelt werden. Es wurden Steigerungen zur Kontrolle von 6,3 % (Maissilage), 6,3 % (Grassilage) und 5,6 % (Getreideschlempe) berechnet, während sich die Zulage auf Heu (-6,0 %) negativ auswirkte. Die Zulage von Roxazyme® auf „frischen“ Biertreber bewirkte zudem eine Erhöhung um 7,8 % in Bezug zur Kontrolle. Auch die Celluclastzulage (13,6 g/ kg T) konnte bei Maissilage (Versuch V1-1) nach achtstündiger Inkubation den Verlust an Zellinhaltsstoffen signifikant um 1,8 % zu K erhöhen. Die Enzyme aus Versuchsreihe 3 zeigten dagegen keine Wirkung.

Anhand dieser Ergebnisse wird deutlich, dass fibrolytische Enzyme nicht nur einen erhöhten Abbau bzw. Verlust an Gerüstsubstanzen, sondern auch an Zellinhaltsstoffen bewirken können. In der vorliegenden Arbeit erwies sich dabei vor allem Roxazyme® als geeignet, jedoch stellte sich wieder die Notwendigkeit einer gewissen Mindestkonzentration und Substrat- bzw. Futtermittelauswahl heraus.

Tab. 65: Verlust (%) an „Zellinhaltsstoffen“ der in den Versuchsreihen 1 und 2 untersuchten Futtermittel nach 4 bzw. 8 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Enzymzulage

Futtermittel	Versuch V1-1 ¹			Versuch V1-2 ²			Versuch V2-1 ³		
	K	C3	R3	K	C2	R3	K	R2	R3
Maissilage	84,0 ^b	85,5 ^a	85,1 ^{ab}	82,4	84,1	85,5	71,5 ^b	74,7 ^a	76,0 ^a
Grassilage	-	-	-	78,2 ^b	82,2 ^{ab}	84,3 ^a	63,2 ^b	65,4 ^{ab}	67,2 ^a
Heu	-	-	-	62,1	63,0	64,0	56,4 ^a	54,6 ^b	53,0 ^c
TMR	-	-	-	78,8	79,0	78,5	73,7	75,5	76,5
				K	C2	R3	K	R2	R3
Gerste	-	-	-	82,0	84,3	88,9	85,5	87,7	88,4
Biertreber	-	-	-	61,9 ^b	61,0 ^b	67,9 ^a	44,7	46,1	48,6
Körnermais	-	-	-	29,4	30,0	32,2	-	-	-
Trockenschnitzel	-	-	-	52,0	52,3	51,9	-	-	-
Getreideschlempe	-	-	-	-	-	-	70,2 ^b	71,7 ^{ab}	74,1 ^a
Rapsextr.schrot	-	-	-	-	-	-	47,1	47,4	46,9
Sonnenbl.extr.schrot	-	-	-	-	-	-	64,3	64,8	66,2

¹achtstündige Inkubationsdauer

²Grundfuttermittel 8 h Inkubationsdauer, Kraftfuttermittel 4 h Inkubationsdauer

³vierstündige Inkubationsdauer

K=Kontrolle C=Celluclast® R=Roxazyme®

Nachfolgende Nummern stehen für die entsprechenden Konzentrationsstufen 1 bis 3

Tab. 66: Verlust (%) an „Zellinhaltsstoffen“ der in Versuchsreihe 3 untersuchten Futtermittel nach 4 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Enzymzulage

Futtermittel	Versuch V3-1				Versuch V3-2			
	K	XB3	CT3	XP3	K	CT1	CT2	CT3
Maissilage	76,2	76,9	78,2	75,9	77,3	78,2	78,6	78,7
Grassilage	81,1	80,5	81,6	80,6	78,6	79,3	78,3	78,8
Heu	54,5	54,0	55,2	55,9	52,5 ^{ab}	52,4 ^b	52,5 ^{ab}	53,1 ^a
	K	XB3	CT3	XP3	K	XB1	XB2	XB3
Gerste	81,6	84,4	82,6	82,5	82,4	84,9	84,5	86,1
Biertreber	46,1	49,1	48,5	44,9	47,7	48,2	47,1	47,5
Getreideschlempe	73,5	75,2	74,0	74,5	75,1	75,1	75,0	73,6

K=Kontrolle XB=Xylanase (*Bacillus subtilis*) CT=Cellulase (*Trichoderma reesei*)
 XP3=Xylanase (*Pseudoalteromonas haloplanktis*)
 Nachfolgende Nummern stehen für die entsprechenden Konzentrationsstufen 1 bis 3

Anhand der dargestellten Ergebnisse werden die komplexen Zusammenhänge für eine wirksame Enzymzulage auf die ruminale Abbaubarkeit von Futtermitteln deutlich. Es zeigte sich jedoch eine verstärkt positive Beziehung zwischen Höhe der Zulage und Wirkungsfähigkeit. Ein Zusammenhang zwischen T-Gehalt der Futtermittel und Effektivität konnte jedoch in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden, da sowohl bei feuchten Grundfuttermitteln als auch bei trockenen Krafftuttermitteln Effekte zu sehen waren. Vielmehr muss wohl ein geeignetes Enzymprodukt für jedes Futtermittel mit einer gewissen Mindestkonzentration gefunden werden. Nachteilige Effekte einer zu hohen Dosierung konnten in der vorliegenden Arbeit im Gegensatz zu Studien von BEAUCHEMIN et al. (2000), KUNG et al. (2000) und ELWAKEEL et al. (2007) nicht festgestellt werden.

In Tabelle 67 wurde versucht, mittels der im *in situ*-Versuch erworbenen Erkenntnisse eine futtermittelspezifische Produkt- und Konzentrationsempfehlung anzugeben. Es muss aber darauf hingewiesen werden, dass diese Empfehlungen mehr als Grundlage weiterer Forschungsvorhaben, nicht aber für einen möglichen Praxiseinsatz zu sehen sind. Der Wirtschaftlichkeit der sehr hohen empfohlenen Dosierungen und fehlende nachweisbare Leistungsdaten gilt es weiterhin Beachtung zu schenken. Auf Grund nivellierender Effekte kann für das Enzym Xylanase

(*Pseudoalteromonas haloplanktis*) und die Futtermittel Trockenschnitzel und Raps- bzw. Sonnenblumenextraktionsschrot keine Einsatzempfehlung angegeben werden.

Tab. 67: Futtermittelspezifische Konzentrationsempfehlungen (g/ kg T) der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Enzympräparate

Konz. (g/ kg T)	Amylase 7b®	Celluclast®	Roxazyme®		Xylanase (<i>Bacillus subtilis</i>)		Cellulase (<i>Trichoderma reesei</i>)	
	8,08	6,78	13,8	27,7	13,8	27,7	13,8	27,7
Gerste				x	x			
Biertreber		x	x					
Getreideschlempe					x			
Körnermais	x							
Maissilage		x		x			x	
Grassilage				x				x
Heu				x		x		x
TMR				x				

4.3.2 Einfluss auf die Verdaulichkeit

In Tabelle 68 sind die in den Versuchen V1-2 und V2-1 bestimmten Gesamtverdaulichkeiten von organischer Masse (OM), Rohfaser (XF), NDF und Stärke dargestellt. Dabei wurden keine signifikanten Behandlungsunterschiede festgestellt. Es ergaben sich jedoch im Mittel aller Behandlungen zwischen den beiden Versuchen Unterschiede in der Verdaulichkeit der Zellwandfraktionen von 4,8 % (XF) und 10,9 % (NDF). Diese höhere Verdaulichkeit der Zellwandkomponenten in Versuch V1-2 kann mit dem höheren NDF-Gehalt der verfütterten TMR von Versuch V1-2 (46,1 %) im Vergleich zur TMR aus Versuch V2-1 (36,6 %) in Verbindung gebracht werden. Auch MCCARTHY et al. (1989) und OVERTON et al. (1995) berichteten über eine verminderte NDF-Gesamtverdaulichkeit bei hohen Anteilen schnell fermentierbarer Substrate in der Ration. In Versuch V1-2 konnten zudem numerische Unterschiede in der NDF-Verdaulichkeit zwischen den Enzymbehandlungen und der Kontrollgruppe von im Mittel 4,8 % beobachtet werden, jedoch muss der hohen Standardabweichung bei der Kontrollbehandlung mit 9,7 % Beachtung geschenkt werden. Der Einfluss des Leistungsstadiums und der damit verbundenen Höhe der Futteraufnahme auf eine mögliche Verdaulichkeitserhöhung in Folge von Enzymzulagen wurde bereits angesprochen.

Tab. 68: Gesamtverdaulichkeit von organischer Masse (OM), Rohfaser (XF), Stärke und NDF aus den Versuchen V1-2 und V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage

	Versuch V1-2 Behandlung				Versuch V2-1 Behandlung		
	K	A2	C2	R3	K	R2	R3
OM (%)	72,5	74,2	75,8	75,0	73,3	73,9	73,4
XF (%)	67,1	68,8	70,3	69,1	63,2	64,3	64,4
NDF (%)	69,0	73,4	74,5	73,4	61,2	62,9	61,0
Stärke (%)	96,3	96,2	96,7	97,0	-	-	-

RODE et al. (1999) ermittelten in ihrem Versuch mit Milchkühen mit Ausnahme von Stärke bei allen Futterinhaltsstoffen signifikant erhöhte Gesamtverdaulichkeiten in Folge einer Enzymapplikation. Die Zulage (1,30 g/ kg T TMR) der Enzymmischung (vorrangig Cellulase und Xylanase) erfolgte dabei über das Kraftfutter. Die höchsten Steigerungen wurden bei NDF und ADF mit 20 bzw. 32 % in Bezug zur Kontrolle festgestellt. BEAUCHEMIN et al. (1999) konnten durch die Enzymapplikation (2,5 g/ kg T TMR) auf eine gerstenbetonte (mit oder ohne Schale) TMR Gesamtverdaulichkeitsverbesserungen um 6,0 % (OM), 8,0 % (NDF) und 11,1 % (ADF) erzielen. Die ruminale NDF-Verdaulichkeit wurde im Gegensatz dazu nur bei Verwendung der schalenlosen Gerste erhöht. Zudem zeigte sich eine um 5,6 % erhöhte Gesamtverdaulichkeit von Stärke, was auf Grund der vernachlässigbaren Amylaseaktivität der Enzymmischung nicht zu erwarten war. Die im Vergleich zur ruminale Verdauung erheblich mehr beeinflusste Gesamtverdaulichkeit von Stärke, ADF und NDF lässt auf eine verstärkt intestinale Wirkung der Enzyme schließen. Dagegen konnten BEAUCHEMIN et al. (2000) in einer weiteren Arbeit mit Milchkühen nur bei Zulage einer niedrigen Konzentration (1,22 ml/ kg T TMR) erhöhte Gesamtverdaulichkeiten von OM (65,9 vs. 68,1 %) und NDF (43,1 vs. 44,2 %) beobachten. Die Applikation von 3,67 ml/ kg T TMR erzielte keine positive Wirkung.

Yang et al. (2002) stellten in ihrem *in vitro*-Versuch einen deutlichen Zusammenhang zwischen Fermenter-pH-Wert (5,5, 6,0 und 6,5) und Enzymwirkung fest. Obwohl bei allen eingestellten pH-Werten signifikant erhöhte OM- und Faserverdaulichkeiten der eingesetzten TMR durch die Enzymzulage (4,0 g pro Tag; Promote®, Agribands International Inc., St. Louis, MO) festgestellt werden konnten, zeigten sich insbesondere bei NDF und ADF Steigerungen von bis zu 18 % bei Fermenter-pH-

Werten über 6,0. Da viele kommerzielle Enzyme pH-Optimas zwischen 4,5 und 5,5 aufweisen (GASHE, 1992), kann diese festgestellte Interaktion ($P < 0,13$) als durchaus überraschend eingestuft werden. Erhöhte Faserverdaulichkeiten mit geringen Effekten auf die Verdaulichkeit der OM wurden auch in Untersuchungen von YANG et al. (1999) und KUNG et al. (2000) bei Einsatz ähnlicher Enzymmischungen (vorrangig Cellulase und Xylanase) erzielt. Dabei wurden durch die „hohe“ Enzymzulage (2,0 g/kg T) auf Luzernenheuballen signifikante Steigerungen in der Gesamtverdaulichkeit von OM und NDF von 2,6 % (64,4 vs. 67,0 %) und 4,8 % (38,8 vs. 43,6 %) bei Milchkühen ermittelt (YANG et al, 1999). Diese Wirkungsspanne ist durchaus mit der in Versuch V1-2 der vorliegenden Arbeit erzielten verbesserten NDF-Gesamtverdaulichkeit von im Mittel 4,8 % vergleichbar. KUNG et al. (2000) berichteten über eine numerisch erhöhte NDF-Verdaulichkeit *in vitro* nach zwölfstündiger Inkubation von enzymbehandeltem Grundfutter im Vergleich zu einer Kontrollbehandlung.

FENG et al. (1996) konnten lediglich bei Applikation einer Enzymmischung aus Alphazyme und Grasszyme (5,26 ml/kg T, Finn-Feeds International, Marlborough, U.K.) auf getrocknetes Gras signifikant verbesserte Verdaulichkeiten von NDF (46,1 vs. 50,23 %) und ADF (43,5 vs. 49,3 %) bei Mastbullen in Bezug zu einer Kontrollbehandlung feststellen. Die alleinige Zulage von Alphazyme (2,1 ml/kg T) oder die Zulage auf angewelktes bzw. frisches Gras führte zu keinem Erfolg. Dies wurde mit einer verbesserten mikrobiellen Kolonisierung des trockenen Grases auf Grund stärkerer kutikularer Zerstörung durch die Enzyme, wie es auch FORWOOD et al. (1990) beschrieben haben, begründet. Diese Oberflächenzerstörung führe somit zu einer erhöhten ruminalen Abbaubarkeit und zur Verringerung der Futterpartikelgröße. Auch LEWIS et al. (1996) beobachteten eine gestiegene NDF- und ADF-Verdaulichkeit einer vorwiegend Heu und Gerste basierenden Ration bei Mastbullen in Folge einer Enzymzulage auf das Futter (1,65 ml/kg T Grundfutter). Eine Infusion über die Pansenfistel 2 h nach der Fütterung erzielte dagegen keinen Effekt. Die Autoren vermuteten einen schnelleren Abbau der infusierten Enzyme bzw. auf Grund fehlender Substratbindung eine schnellere Passage durch den Pansen mit der Pansenflüssigkeit. Dagegen konnten KRAUSE et al. (1998) lediglich Verbesserungen in der ADF-Gesamtverdaulichkeit bei Mastbullen, welche mit enzymbehandelter Gerste (1,5 ml/kg, Cellulase und Xylanase) gefüttert wurden, ermitteln. Dabei betrug die Steigerung bei Gerstensilage als Grundfutter 55,5 %, bei Gerstenstroh 14,4 %.

Die Verdaulichkeiten von OM und NDF wurden nicht beeinflusst. Die Autoren begründeten dies mit einer verbesserten Verdauung der Gerstenschale durch die Enzymzulagen.

ROJO et al. (2005) berichteten über signifikante Verbesserungen in der Gesamtverdaulichkeit bei Schafen durch die Zulage (2,90 g/ kg T) von Amylase (*Bacillus licheniformis*) von 70,7 auf 74,4 % (OM) und 94,8 auf 97,2 % (Stärke). Die ruminale Stärkeverdauung wurde von 62,1 auf 81,9 % erhöht. Dagegen konnte durch die Zufuhr von Glucoamylase (*Aspergillus niger*) kein Effekt erzielt werden. PINOS-RODRIGUEZ et al. (2002) konnten wiederum bei Schafen durch die Zulage einer Enzymmischung (Fibrozyme, Alltech Inc., Nicholasville, KY) über die Pansenfistel (5,0 g/ d) eine tendenziell erhöhte NDF-Verdaulichkeit von Luzernenheu (56,6 vs. 62,9 %) ermitteln, während bei Weidelgras kein Effekt zu sehen war. Dies lässt wiederum auf eine futtermittelspezifische Wirkungsfähigkeit von Enzymen schließen. HRISTOV et al. (1998) und LEWIS et al. (1999) konnten keine Enzymeffekte auf die Gesamtverdaulichkeit feststellen.

4.3.3 Einfluss auf pansensphysiologische Parameter

Flüchtige Fettsäuren (FFS) decken 60-70 % des Energiebedarfs bei Wiederkäuer (ARMENTANO, 1992; VAN SOEST, 1982) und stellen somit einen äußerst wichtigen Parameter im ruminalem Kohlenhydratumsatz dar. Von den drei wichtigsten flüchtigen Fettsäuren sind Essig- und Buttersäure Substrate für die Fettsynthese. Propionsäure ist die einzige glycolytische flüchtige Fettsäure und deckt 65-80 % des Netto-Glucosebedarfs von Milchkühen (REYNOLDS, 2003). Cellulosereiche Futtermittel führen zu einem hohen relativen Anteil an Essigsäure und zu geringen Anteilen an Propion- und Buttersäure. Demgegenüber reduzieren stärkereiche Rationen den Acetatanteil und erhöhen die Anteile an Propionat und Butyrat (JEROCH et al., 1999). Diese FFS-Produktion steht in engem Zusammenhang mit dem ruminalem pH-Wert, welcher einen großen Einfluss auf die Mikrobenpopulation im Pansen und somit auch auf die Aminosäurenversorgung des Wirtstieres hat. Die Versorgung der Mikroorganismen mit Stickstoff bzw. Ammoniak stellt neben einer ausreichenden Energieversorgung den Hauptfaktor für ein günstiges ruminales Mikrobewachstum dar.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss exogener Enzymzulagen auf diese entscheidenden pansenphysiologischen Parameter näher betrachtet. Einen Mittelwertsvergleich über alle acht Entnahmezeiten der in den Versuchen V1-2 und V2-1 ermittelten Pansenparameter gibt Tabelle 69. Dabei wurde bei keiner Enzymzulage ein signifikanter Effekt auf den pH-Wert und den Gehalt an $\text{NH}_3\text{-N}$ im Pansensaft der Versuchstiere ermittelt. In Folge der Roxazymezulage konnten jedoch im Mittel der Entnahmezeiten in Versuch V1-2 signifikant niedrigere Acetat- und damit verbundene FFS-Gesamtkonzentrationen im Vergleich zur Kontrollbehandlung festgestellt werden. Dieser Effekt konnte jedoch in Versuch V2-1 nicht bestätigt werden. Ein Enzymeinfluss auf die Butyrat- und Propionatkonzentrationen und das C2:C3-Verhältnis im Mittel über alle Entnahmezeiten wurde nicht beobachtet. Die Amylasezulage in Versuch V1-2 zeigte zudem, im Gegensatz zur Betrachtung der einzelnen Entnahmezeiten, keine signifikanten Unterschiede in Bezug zur Kontrollbehandlung.

Nach LEEK (1993) und HOUTERT (1993) variiert die FFS-Gesamtkonzentration in Abhängigkeit der verfütterten Ration zwischen 60 und 120 mmol/l, womit sich die Konzentrationen in der vorliegenden Arbeit mit mittleren Werten von 71,4 mmol/l (Versuch V1-2) und 67,4 mmol/l (Versuch V2-1) eher im unteren Bereich befanden.

Tab. 69: Mittlere¹ ruminale pH-Werte, NH₃-N-Gehalte und FFS-Konzentrationen der in den Versuchen V1-2 und V2-1 untersuchten Enzymbehandlungen und der Kontrolle

	Versuch V1-2 Behandlung				Versuch V2-1 Behandlung		
	K	A2	C2	R3	K	R2	R3
pH-Wert	6,66	6,53	6,54	6,70	6,79	6,75	6,78
NH ₃ -N (mg/ 100 ml)	12,5	11,1	12,8	10,6	9,39	9,96	9,72
Flüchtige Fettsäuren: (mmol/ l)							
Acetat	50,8 ^a	51,2 ^a	53,2 ^a	40,3 ^b	46,4	47,1	45,9
Butyrat	10,7	8,37	10,1	8,04	7,92	9,03	9,25
Propionat	14,1	13,7	14,1	11,2	11,7	12,9	12,2
FFS-Gesamt	75,6 ^a	72,8 ^{ab}	77,5 ^a	59,6 ^b	66,0	69,0	67,3
C2:C3	3,74	3,92	3,89	3,76	4,14	3,82	3,99

¹Vergleich der Mittelwerte über acht Entnahmezeiten

SUTTON et al. (2003) konnten keine signifikanten Behandlungseffekte bei Enzymzulagen (Xylanase und Endoglucanase) auf den täglichen mittleren pH-Wert, Ammoniak- und FFS-Gesamtkonzentration feststellen. Numerisch zeigte sich jedoch der pH-Wert erniedrigt und die Ammoniakkonzentration erhöht in Folge der Enzymzulagen. Der molare Acetatanteil tendierte zu sinken, die molaren Anteile von Propion- und n-Valeriansäure sich gegenüber der Kontrollbehandlung zu erhöhen. Die Buttersäure wurde nicht beeinflusst.

RANILLA et al. (2007) untersuchten in ihrer Arbeit die Auswirkungen eines fibrolytischen Enzympräparates (FibrozymeTM, Alltech Inc., Nicholasville, KY, USA) in zwei Konzentrationen (50 g/ kg T bzw. 100 g/ kg T) auf die Pansenfermentation von Luzernenheu, Heu und Gerstenstroh und deren isolierten Zellwänden (NDF) *in vitro*. Nach fünfstündiger Inkubationsdauer konnten sowohl bei Luzernenheu als auch bei dessen isolierter Zellwand (NDF) erhöhte (P<0,05) FFS- und Acetatkonzentrationen durch die Enzymzulage beobachtet werden, wohingegen die Propionat- und Butyratbildung nur bei Inkubation der NDF signifikant (P<0,05) positiv beeinflusst wurde. Nach zehnstündiger Inkubation wurde bei beiden Substraten eine gesteigerte Bildung von FFS und Propionat durch die Enzymzulagen im Vergleich zur Kontrolle

ermittelt. Auch bei Inkubation von Heu und dessen Zellwand konnten durch das Enzympräparat nach 5 und 10 h Inkubation erhöhte ($P < 0,05$) FFS-, Acetat- und Propionatkonzentrationen in Bezug zur Kontrolle festgestellt werden, jedoch wurden bei allen Parametern die höchsten Gehalte durch die hohe Enzymdosis (100 g/ kg T) erreicht. Bei beiden Substraten konnte zudem nach 24stündiger Inkubation ein signifikant positiver Effekt der Enzyme auf die FFS-Gesamt-, Acetat- und Butyratproduktion ermittelt werden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei Inkubation von Gerstenstroh bzw. dessen isolierter Zellwände erzielt, bei welchen durch die Enzymzulagen wiederum signifikant ($P < 0,05$) erhöhte Gehalte an FFS, Acetat und Butyrat nach 5 und 10 h Inkubationsdauer festgestellt wurden. Die hohe Enzymdosis wirkte sich wiederum verstärkt positiv aus. Das C2:C3- Verhältnis wurde bei allen Substraten nach fünfstündiger Inkubation durch die Enzymzulagen im Vergleich zur Kontrolle verringert. Die Enzyme zeigten somit einen verstärkt positiven Effekt in den kurzen Inkubationszeiten (5 und 10 h) in Abhängigkeit von Substrat und Enzymdosis. BEAUCHEMIN et al. (2000) stellten keinen Effekt einer Enzymzulage (Cellulase/ Xylanase) auf die Gesamtkonzentration an FFS fest, jedoch wurde der Essigsäureanteil bei Zulage der niedrigen Konzentration (1,22 ml/ kg T) sowohl vor als auch nach der Fütterung signifikant zur Kontrollgruppe erhöht, was mit einer erhöhten Gesamtverdaulichkeit in Verbindung gebracht wurde. Propionat und Butyrat zeigten dagegen keine Beeinflussung. Weiterhin wurde ein geringerer $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt vor der Fütterung in Folge der Enzymzulagen beobachtet. Nach der Fütterung wurde hingegen lediglich bei Applikation der niedrigen Enzymkonzentration ein signifikant geringerer $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt festgestellt. Dies wurde mit einer Erhöhung der langsam verdaulichen Kohlenhydrate in Folge der Zulage begründet. Der pH-Wert wurde dagegen nicht beeinflusst.

Über erhöhte Essigsäureanteile in Folge einer Enzymzulage berichteten auch YANG et al. (2002), während der Propionatanteil signifikant zur Kontrolle verringert wurde, was auch in der vorliegenden Arbeit bei der Roxazymezulage R3 in Versuch V1-2 beobachtet wurde. Die $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration wurde nicht beeinflusst. JURKOVICH et al. (2006) analysierten in ihrer Arbeit mit Schafen erhöhte FFS-Gesamtkonzentrationen in Folge einer Xylanasezulage (*Thermomyces lanuginosus*). Der molare Anteil von Acetat stieg, Propionat und Pansen-pH wurden nicht beeinflusst. Der Butyratanteil verringerte sich nach der Enzymzulage. Eine Erhöhung der FFS-Gesamtkonzentration bei Einsatz des selben Enzymprodukts (34 g/ Kuh und Tag) wurde

auch bei Milchkühen ermittelt (KUTASI et al., 2001). PINOS-RODRIGUEZ et al. (2002) stellten keinen Effekt einer Enzymzulage auf pH-Wert und $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt fest, während der Enzymeffekt auf die FFS-Konzentration inkonsistente Ergebnisse lieferte. Lediglich bei der Pansensaftentnahme 3 h nach der Fütterung zeigten sich Interaktionen zwischen Enzymzulage und Essig-, Propion- und Buttersäurekonzentration. DÖNMEZ et al. (2003) stellten 2 h nach der Fütterung tendenziell niedrigere Gesamt-, Acetat- Propionat- und Butyratkonzentrationen bei einer Fütterung von enzymbehandelter Maissilage fest. Zudem zeigte sich ein signifikant niedriger $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt im Pansensaft der Enzymgruppe im Vergleich zur Kontrolle (15,9 vs. 7,71 mg/ 100 ml). YANG et al. (1999) berichteten über eine numerische Erhöhung der FFS-Konzentration (130 vs. 122 mM/ l) und des Propionatanteils im Pansensaft der enzymbehandelten Tiere; pH-Wert und $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt wurden nicht beeinflusst. Ähnliche Ergebnisse konnten auch in einer Arbeit von LEWIS et al. (1996) ermittelt werden, in welcher 16 h nach der Fütterung in Folge einer Enzymapplikation signifikant höhere FFS-Konzentrationen (136,5 vs. 104,0 mM/ l) analysiert wurden, während der molare Anteil der einzelnen FFS und der $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt nicht signifikant verändert wurde. Zudem zeigten sich bei den Enzymbehandlungen signifikant geringere pH-Werte (5,97 vs. 6,03). In einer Arbeit von HRISTOV et al. (1998) wurde kein Effekt einer Enzymzulage weder über das Futter noch abomasal über die Pansenfistel auf die FFS-Gesamtkonzentration ermittelt, jedoch zeigte sich eine tendenzielle Erhöhung der Buttersäurekonzentration bei der Verabreichung über die Pansenfistel in den Labmagen. Auch EUN und BEAUCHEMIN (2007) konnten bei der Untersuchung mehrerer Endoglucanase- bzw. Xylanasepräparate *in vitro* keinen Effekt auf die FFS-Gesamtproduktion beobachten. Veränderungen des C2:C3-Verhältnisses wurden jedoch bei einigen Produkten festgestellt.

Demgegenüber zeigte sich in einer Studie von ROJO et al. (2005) eine Reduzierung der FFS-Gesamtkonzentration in Folge einer Amylasezulage (*Bacillus licheniformis*). Diese Verringerung konnte auch in der vorliegenden Arbeit bei der Roxazyme-, jedoch nicht bei der Amylasezulage in Versuch V1-2 beobachtet werden. Auch der $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt im Pansensaft der Versuchstiere zeigte eine Reduktion mit Höhe der Enzymzulage. Der prozentuale Anteil an Propionat wurde beim Einsatz der niedrigeren Konzentration (1,45 g/ kg T) im Vergleich zur Kontrolle erhöht. Eine Erhöhung in Folge der Enzymapplikation wurde auch beim Pansen-pH festgestellt.

Dagegen berichteten die Autoren über eine lineare Steigerung der FFS-Gesamtkonzentration und des $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehaltes bei einer Zulage von Glucoamylase (*Aspergillus niger*). TRICARICO et al. (2007) berichteten über erhöhte Anteile an Butyrat im Pansen der Versuchstiere in Folge einer α -Amylase-Zulage (*Aspergillus oryzae*), während die molaren Propionatanteile verringert wurden.

KUNG et al. (2000), BEAUCHEMIN et al. (1999), KRAUSE et al. (1998), LUCHINI et al. (1997) und FENG et al. (1996) konnten keine signifikanten Enzymeffekte auf die ruminalen Fermentationsparameter feststellen, was von BEAUCHEMIN et al. (1999) mit einer hauptsächlich postruminalen Enzymwirkung begründet wurde.

Tabellen 70 und 71 geben einen Überblick über die Auswirkungen von exogenen Enzymzulagen auf die pansenphysiologischen Kenngrößen pH-Wert, $\text{NH}_3\text{-N}$ und FFS. Die dargestellten Ergebnisse verdeutlichen die inkonsistente Wirkungsweise von exogenen Enzymzulagen auf die untersuchten ruminalen Fermentationsparameter, wie sie auch in der vorliegenden Arbeit erzielt wurden. Eine abschließende Bewertung der Enzymeffekte auf diese pansenphysiologischen Kenngrößen ist somit nicht möglich.

Tab. 70: Auswirkungen exogener Enzymzulagen auf Pansen-pH und $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt

Untersuchter Parameter	Erhöhung	kein signifikanter Effekt	Erniedrigung
pH-Wert		Beauchemin et al. (2000) Jurkovich et al. (2006) Pinos-Rodriguez et al. (2002) Yang et al. (1999) Kung et al. (2000) Beauchemin et al. (1999) Krause et al. (1998) Luchini et al. (1997) Feng et al. (1996)	Lewis et al. (1996)
$\text{NH}_3\text{-N}$	Rojo et al. (2005) Giraldo et al. (2007a) Hristov et al. (1998b)	Yang et al. (2002) Pinos-Rodriguez et al. (2002) Yang et al. (1999) Kung et al. (2000) Beauchemin et al. (1999) Krause et al. (1998) Luchini et al. (1997) Feng et al. (1996)	Rojo et al. (2005) Beauchemin et al. (2000) Dönmez et al. (2003)

Tab. 71: Auswirkungen exogener Enzymzulagen auf die FFS-Gesamtkonzentration, die molaren Anteile von Acetat, Butyrat und Propionat und das C2:C3-Verhältnis

Untersucher Parameter	Erhöhung	kein signifikanter Effekt	Erniedrigung
Konzentration an flüchtigen Fettsäuren (FFS)	Rojo et al. (2005) Ranilla et al. (2007) Jurkovich et al. (2002, 2006) Kutasi et al. (2001) Lewis et al. (1996) Giraldo et al. (2007a) Giraldo et al. (2007b) Pinos-Rodriguez et al. (2002)	Beauchemin et al. (2000) Hristov et al. (1998b) Eun und Beauchemin (2007) Kung et al. (2000) Beauchemin et al. (1999) Krause et al. (1998) Luchini et al. (1997) Feng et al. (1996)	Rojo et al. (2005)
Essigsäure (molarer Anteil)	Ranilla et al. (2007) Beauchemin et al. (2000) Yang et al. (2002) Jurkovich et al. (2006) Pinos-Rodriguez et al. (2002) Giraldo et al. (2007a) Giraldo et al. (2007b)	Lewis et al. (1996) Kung et al. (2000) Beauchemin et al. (1999) Krause et al. (1998) Luchini et al. (1997) Feng et al. (1996)	Krueger und Adesogan (2007) Sutton et al. (2003)
Buttersäure (molarer Anteil)	Tricarico et al. (2007) Ranilla et al. (2007) Pinos-Rodriguez et al. (2002) Hristov et al. (1998) Krueger und Adesogan (2007)	Beauchemin et al. (2000) Lewis et al. (1996) Kung et al. (2000) Beauchemin et al. (1999) Krause et al. (1998) Luchini et al. (1997) Feng et al. (1996)	Jurkovich et al. (2006)
Propionsäure (molarer Anteil)	Rojo et al. (2005) Ranilla et al. (2007) Pinos-Rodriguez et al. (2002) Giraldo et al. (2007b) Krueger und Adesogan (2007)	Beauchemin et al. (2000) Jurkovich et al. (2006) Lewis et al. (1996) Kung et al. (2000) Beauchemin et al. (1999) Krause et al. (1998) Luchini et al. (1997) Feng et al. (1996)	Tricarico et al. (2007) Yang et al. (2002)
C2:C3-Verhältnis	Hristov et al. (1998b)	Kung et al. (2000) Beauchemin et al. (1999) Krause et al. (1998) Luchini et al. (1997) Feng et al. (1996)	Ranilla et al. (2007) Eun et al. (2007) Krueger und Adesogan (2007)

4.3.4 Einfluss auf Leistungsparameter

Ziele von Futterzusatzstoffen sind neben einer effektiven Umwandlung von Futtermittel in Lebensmittel und eine somit verbesserte Ökobilanz bei der Erzeugung tierischer Produkte die Steigerung entsprechender Leistungskriterien wie Milchleistung und Milchinhaltsstoffe bei Milchkühen bzw. tägliche Zunahmen bei Mastbullen. Die Verringerung des Energiedefizits in der Früh lactation von Hochleistungskühen und die Beeinflussung von Futteraufnahme und Körpergewicht sind weitere entscheidende Parameter zur Beurteilung von Futteradditiven. Zahlreiche Studien haben die Wirkungsfähigkeit vorrangig fibrolytischer exogener Enzymzulagen bei Wiederkäuer überprüft, welche im Folgenden näher betrachtet werden.

Versuche mit Milchkühen

BÖNING und MEYER (2006) stellten bei Zulage einer fibrolytischen Enzymmischung (4 ml/ kg T TMR) eine erhöhte tägliche Futteraufnahme (16,6 vs. 18,7 kg T) und somit gesteigerte Energieaufnahme bei Milchkühen fest, welche sich aber nicht auf Milchleistung oder Milchinhaltsstoffe auswirkte. Bei Versuchswiederholung konnte kein Enzymeffekt ermittelt werden. Jedoch zeigten sich in beiden Versuchen tendenziell geringere Milchfettgehalte bei den Enzymbehandlungen. DHIMAN et al. (2002) konnten keinen Einfluss einer Enzymmischung aus Cellulase und Xylanase (1,3 ml/ kg T Grundfutter) auf Futteraufnahme, Milchleistung, Milchinhaltsstoffe und Körpergewichtsentwicklung beobachten. Der Versuchszeitraum streckte sich von der 9. bis 21. Laktationswoche mit einer mittleren täglichen Futteraufnahme von 27,3 kg T und einer mittleren Milchleistung von 39,1 kg pro Kuh und Tag.

ZHENG et al. (2000) untersuchten den Zusammenhang zwischen Laktationsstadium und Enzymwirkung. Die Applikation auf das Grundfutter erfolgte (1) 6 bis 18 Wochen postpartum (2) ab der Kalbung bis 18 Wochen postpartum (3) 4 Wochen prepartum bis 18 Wochen postpartum. Dabei konnten die Autoren bei der Milchleistung keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Enzymbehandlungen erkennen. Die Milchzusammensetzung wurde nicht durch die Enzymzulage signifikant zur Kontrolle beeinflusst. Jedoch konnte eine tendenzielle Erhöhung des Eiweißgehaltes ($P < 0,06$) beobachtet werden. Auf Grund der erhöhten Milchleistung bei den enzymbehandelten Tieren (39,0 vs. 35,8 kg/ d ECM) zeigte sich zudem eine

signifikant erhöhte Fett- und Eiweißleistung (1,49 vs. 1,36 bzw. 1,10 vs. 1,00 kg/ d) in Bezug zur Kontrolle. Futteraufnahme, Körpergewicht und BCS wurden dagegen nicht verändert. Auf Grund der numerisch höchsten Milchleistung (40,6 kg/ d ECM) bei Behandlung (2) sprachen sich die Autoren für einen Applikationsstart im Bereich der Abkalbung aus.

KUNG et al. (2000) beobachteten eine signifikant erhöhte Milchleistung (39,5 vs. 37,0 kg/ d) in Bezug zur Kontrolle bei Kühen (100 DIM), welche mit einer enzym-behandelten TMR (Konz.: 2,0 ml/ kg T) gefüttert wurden. Die Applikation erfolgte dabei über das Grundfutter. Eine höhere Enzymzulage (5,0 ml/ kg T) hingegen zeigte sich als nicht effektiv (36,2 kg/ d). Futteraufnahme und Milchinhaltsstoffe wurden nicht signifikant zur Kontrolle beeinflusst. Die Applikation einer veränderten Enzymmischung in einem weiteren Versuch führte wiederum zu einer signifikant höheren Milchleistung (35,4 vs. 32,9 kg/ d) in Bezug zur Kontrolle. BEAUCHEMIN et al. (2000) berichteten über erhöhte Futteraufnahmen in Folge einer Enzymzulage (1,22 bzw. 3,67 ml/ kg TMR) von 7,5 bzw. 5,2 % im Vergleich zur Kontrolle, was sich jedoch nicht auf die Milchleistung auswirkte. Dies begründeten die Autoren mit der positiven Energiebilanz der Kühe, welche die Laktationsspitze im Versuchszeitraum schon überwunden hatten. Der Milcheiweißgehalt wurde bei beiden Zulageniveaus signifikant zur Kontrolle erhöht, wohingegen die restlichen Inhaltsstoffe nicht beeinflusst wurden. Die Autoren empfahlen daher die Zulage exogener fibrolytischer Enzyme vorrangig bei Kühen mit negativer Energiebilanz. Einen Einsatz innerhalb der ersten 100 Laktationstage wird auch von SCHINGOETHE et al. (1999) empfohlen, welche in ihrem Versuch mit Milchkühen eine 9 bis 15 %ige Milchleistungssteigerung bei Enzymzulage im ersten Laktationsdrittel beobachteten, während bei Kühen in der Mittellaktation kein Effekt zu sehen war. Steigernde Zulagen (0,7, 1,0 und 1,5 ml/ kg T Grundfutter) tendierten zudem zu erhöhten Milchleistungen. Ein Effekt auf die Futteraufnahme konnte nicht festgestellt werden. Die Fett- und Eiweißgehalte wurden durch die Enzymzulage signifikant positiv beeinflusst. Die Enzymwirkung begann in diesem Versuch 2 bis 4 Wochen nach Zulagebeginn und zog sich über die gesamte Versuchsdauer. Dies nutzten die Autoren zur Empfehlung von Langzeitstudien.

RODE et al. (1999) beobachteten eine um 10 % höhere Milchleistung bei enzym-behandelten Kühen (Zulage: 1,3 g/ kg T TMR) bei gleichbleibender Futteraufnahme in Bezug zur Kontrolle. Die Applikation erfolgte dabei über das Krafffutter. Auf Grund

niedriger Milchfett- und Eiweißgehalte zeigten sich keine Unterschiede in der täglichen Fett- und Eiweißleistung. Die Versuchstiere wiesen ein Energiedefizit auf, welches durch den Enzymeinsatz um 8 % im Vergleich zur Kontrolle reduziert werden konnte.

Dagegen konnten LEWIS et al. (1999) sowohl bei Kühen in der Mittellaktation (213 DIM) (Versuch 1), als auch bei Kühen, welche sich im ersten Laktationsdrittel befanden (Versuch 2), Steigerungen in der Milchleistung um 5 bzw. 16 % feststellen. Dabei wurde in Versuch 1 eine Enzymzulage (1,65 ml/ kg T Grundfutter), in Versuch 2 drei verschiedene Konzentrationen (1,25, 2,5 und 5,0 ml/ kg T Grundfutter) in Bezug zu einer Kontrollbehandlung untersucht. Das verwendete Enzym war eine Mischung aus Cellulase und Xylanase im Verhältnis 2:1. Während in Versuch 1 kein Enzymeffekt auf die tägliche T-Aufnahme festgestellt werden konnte, wurden in Versuch 2 bei allen Enzymbehandlungen signifikant erhöhte Futteraufnahmen um im Mittel 8 % ermittelt. Die Fett- und Eiweißleistungen bei den enzymbehandelten Kühen aus Versuch 1 waren mit Steigerungen um 8,8 und 7,3 % zur Kontrolle signifikant positiv beeinflusst. Dagegen wurden bei allen Enzymzulagen in Versuch 2 signifikant niedrigere Eiweißgehalte um im Mittel 2,8 % in Bezug zur Kontrolle beobachtet. Der Milchfettgehalt wurde nur bei der hohen Konzentration (5,0 ml/ kg T) signifikant zur Kontrolle erniedrigt (3,75 vs. 3,99 %). Ein Effekt auf die Milchleistung zeigte sich dagegen nur bei einer Zulage von 2,5 ml/ kg T, was die Autoren mit der Notwendigkeit einer exakten Dosierung in Abhängigkeit der Fütterungssituation begründeten.

SANCHEZ et al. (1996) untersuchten eine ähnliche Enzymmischung bei gleichen Konzentrationen (1,25, 2,5 und 5,0 ml/ kg T Grundfutter) bei frühlaktierenden Kühen und stellten wiederum bei allen enzymbehandelten Tieren eine signifikant erhöhte Futteraufnahme um im Mittel 7,9 % zur Kontrolle fest. Die Milchleistung hingegen wurde wiederum nur bei der mittleren Zulage (2,5 ml/ kg T) signifikant um 15,9 % erhöht. Dagegen ermittelten YANG et al. (1999) einen positiven Zusammenhang zwischen Höhe der Enzymzulage (1,0 bzw. 2,0 g/ kg Heu) und Milchleistung. Eine signifikant erhöhte Milchleistung (25,6 vs. 23,7 kg/ d) konnte nur bei Zulage der hohen Konzentration im Vergleich zur Kontrollbehandlung beobachtet werden. Signifikante Veränderungen in der Futteraufnahme oder im Fett- und Eiweißgehalt konnten nicht ermittelt werden.

BEAUCHEMIN et al. (1999) untersuchten die Zulage einer Enzymmischung (2,5 g/ kg T TMR) bei Milchkühen (110 DIM) unter Berücksichtigung verschiedener Gerstearten und konnten eine tendenziell erhöhte 4 % FCM-Leistung um im Mittel 3 % zur Kontrolle ermitteln, was auf Grund gleichbleibender Futteraufnahmen mit einer verbesserten Nährstoffverdaulichkeit begründet wurde. Die Fett- und Eiweißgehalte stiegen um im Mittel 3,1 bzw. 1,7 % durch die Enzymzulage.

NUSSIO et al. (1997) stellten in ihrem Versuch mit früh- und mittellaktierenden Kühen vor allem positive Effekte einer Enzymzulage (0,7, 1,2 oder 1,7 ml/ kg Luzernenheu) auf die Milchleistung bei den frühlaktierenden Kühen fest, welche bei Zulage der hohen Konzentration um 9 % in Bezug zur Kontrollgruppe stieg. Mit Höhe der Zulage stieg auch die Futteraufnahme, was sich jedoch wiederum verstärkt bei den frühlaktierenden Kühen beobachten ließ.

LUCHINI et al. (1997) untersuchten die Applikation einer ähnlichen Enzymmischung aus Cellulase und Xylanase in den gleichen Konzentrationen jedoch auf Luzernensilage. Sie stellten wiederum bei den hohen Dosierungen erhöhte Futteraufnahmen ($P < 0,001$) fest, während keine signifikanten Effekte auf Körpergewicht, BCS, Milch-, Fett- und Eiweißleistung ermittelt werden konnten. Die Milchfett- und Eiweißgehalte hingegen wurden durch die Enzymzulagen erhöht ($P < 0,04$). In einem Folgeversuch mit den gleichen Enzymzulagen wurde der nivellierende Effekt auf Futteraufnahme und Milchleistung, jedoch ein erhöhter Milchfettgehalt bestätigt.

In einem eigenen Versuch (nicht veröffentlicht) wurde eine Enzymmischung aus den in den Versuchsreihen 1 und 2 der vorliegenden Arbeit verwendeten Enzymen Amylase 7b® (A), Celluclast® (C) und Roxazyme® (R) bei Milchkühen (166 DIM) untersucht. Der Versuchsplan entsprach einem „switch over design“ mit drei aufeinanderfolgenden Versuchsperioden (drei Wochen pro Periode). Die dabei eingesetzten Konzentrationen entsprachen der Konzentrationsstufe 1 der vorliegenden Arbeit und betragen 4,04 g/ kg T (A), 3,39 g/ kg T (C) und 6,92 g/ kg T (R). Die Applikation der Enzymmischung erfolgte über die PMR (partial mixed ration). Dabei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei Futteraufnahme (19,9 vs. 19,3 kg T/ d), Milchleistung (25,6 vs. 25,8 kg/ d), Milchfettgehalt (4,10 vs. 4,16 %) und Milcheiweißgehalt (3,57 vs. 3,60 %) zwischen Enzym- und Kontrollgruppe. Ein nivellierender Einfluss von Roxazyme® G2 Liquid auf Futteraufnahme, BCS und

Milchleistung wurde auch in einer Untersuchung von MILLER et al. (2007) mit Weidetieren ermittelt. Die Applikation (2,15 oder 4,30 ml/ kg T) erfolgte dabei über das Kraftfutter (Gerste oder Hirse). Lediglich die Milchfettleistung zeigte sich numerisch ($P=0,112$) in Folge der hohen Enzymzulage in Bezug zur Kontrolle erniedrigt.

SUTTON et al. (2003) und ELWAKEEL et al. (2007) konnten keine signifikanten Enzymeffekte auf Milchleistung und Futteraufnahme nach Applikation auf die verfütterte TMR beobachten. Einen Überblick über die Enzymeffekte auf Leistungsparameter der Milchproduktion gibt Tabelle 72.

Tab. 72: Auswirkungen exogener Enzymzulagen auf Futteraufnahme, Milchleistung und Milchhaltsstoffe

Untersucher Parameter	Erhöhung	kein signifikanter Effekt	Erniedrigung
Futteraufnahme	Böning und Meyer (2006) Beauchemin et al. (2000) Lewis et al. (1999) Sanchez et al. (1996) Nussio et al. (1997) Luchini et al. (1997) Tricarico et al. (2007) Yang et al. (2000)	Dhiman et al. (2002) Zheng et al. (2000) Kung et al. (2000) Schingoethe et al. (1999) Rode et al. (1999) Lewis et al. (1999) Yang et al. (1999) Beauchemin et al. (1999) Miller et al. (2007) Sutton et al. (2003) Elwakeel et al. (2007)	
Milchleistung	Kung et al. (2000) Schingoethe et al. (1999) Rode et al. (1999) Lewis et al. (1999) Sanchez et al. (1996) Yang et al. (1999) Beauchemin et al. (1999) Nussio et al. (1997) Jurkovich et al. (2002) Yang et al. (2000)	Böning und Meyer (2006) Dhiman et al. (2002) Zheng et al. (2000) Kung et al. (2000) Beauchemin et al. (2000) Schingoethe et al. (1999) Sanchez et al. (1996) Luchini et al. (1997) Miller et al. (2007) Sutton et al. (2003) Elwakeel et al. (2007)	
Milchfettgehalt	Schingoethe et al. (1999) Beauchemin et al. (1999) Luchini et al. (1997)	Böning und Meyer (2006) Dhiman et al. (2002) Zheng et al. (2000) Kung et al. (2000) Yang et al. (1999) Sutton et al. (2003) Elwakeel et al. (2007) Yang et al. (2000)	Böning und Meyer (2006) Rode et al. (1999) Lewis et al. (1999) Tricarico et al. (2007)
Milcheiweißgehalt	Beauchemin et al. (2000) Schingoethe et al. (1999) Beauchemin et al. (1999) Luchini et al. (1997) Sutton et al. (2003)	Böning und Meyer (2006) Dhiman et al. (2002) Zheng et al. (2000) Kung et al. (2000) Yang et al. (1999) Elwakeel et al. (2007) Yang et al. (2000)	Rode et al. (1999) Lewis et al. (1999)
Milchfettleistung	Zheng et al. (2000) Lewis et al. (1999) Miller et al. (2007)	Rode et al. (1999) Luchini et al. (1997) Sutton et al. (2003) Tricarico et al. (2007)	
Milcheiweißleistung	Zheng et al. (2000) Lewis et al. (1999) Sutton et al. (2003)	Rode et al. (1999) Luchini et al. (1997)	

Versuche mit Schafen und wachsenden Rindern

TITI und LUBBADEH (2004) untersuchten den Einfluss einer Cellulase auf Futteraufnahme, Milchleistung und Geburts- und Absetzgewicht bei Schafen und Ziegen. Die Enzymzugabe auf das Futter erfolgte dabei während der letzten beiden Trächtigkeitsmonate bis zu den ersten 60 Laktationstagen. Die Applikation führte bei beiden Tierarten zu erhöhten Absetzgewichten und Milchleistungen ($P < 0,05$). Die Futteraufnahme der Muttertiere und die Geburtsgewichte der Lämmer bzw. Zicklein wurden nicht beeinflusst. Zudem wurden bei den Mutterschafen die Milch- und Eiweißleistungen signifikant ($P < 0,05$) zur Kontrolle erhöht. Bei den Ziegen konnte kein Enzymeffekt beobachtet werden. Den Einsatz eines fibrolytischen Enzyms bei Schafen gingen auch MUWALLA et al. (2007) in einer Studie nach, in welcher jedoch keine positiven Effekte auf Futteraufnahme, Körpergewicht, tägliche Zunahmen und Gesamtverdaulichkeit erkennbar waren. In einem weiteren Versuch mit Schafen wurde bei Zulage einer Amylase (*Bacillus licheniformis*) mit steigender Enzymkonzentration (1,45 bzw. 2,90 g/ kg T) eine Abnahme der Futteraufnahme ermittelt, während bei Zulage von Glucoamylase (*Aspergillus niger*) in keiner Dosierung ein signifikanter Effekt beobachtet werden konnte (ROJO et al., 2005). Dagegen führte in einem Versuch von PINOS-RODRIGUEZ et al. (2002) mit Schafen die Verabreichung einer fibrolytischen Enzymmischung (5,0 g pro Tier und Tag) über die Pansenfistel sowohl zu einer höheren Luzernen- als auch Weidelgrasheuaufnahme um 2,9 bzw. 21,1 %. Eine Enzymapplikation in verschiedenen Konzentrationen (0,25 bis 4,0 ml/ kg T) einer Cellulase-Xylanase-Mischung erhöhte die durchschnittliche tägliche Zunahme bei Mastbullen, welche mit Luzernen- oder Wiesenlieschgrasheu gefüttert wurden, um 30 bzw. 36 %. Eine Zulage auf Gerstensilage hatte dagegen keine Auswirkungen (BEAUCHEMIN et al., 1995). Wurde die gleiche Mischung zu einer 95 %igen Getreideration supplementiert, zeigte sich bei den Bullen, welche mit Gerste gefüttert wurden, eine um 11 % bessere Futtermittelverwertung. Bei Verfütterung von Mais waren keine Leistungsänderungen zu beobachten (BEAUCHEMIN und RODE, 1996). Zulagen einer weiteren Cellulase-Xylanase-Mischung mit Dosierungen von bis zu 5,0 ml/ kg T auf Rationen aufbauend auf Luzernensilage (MICHAL et al., 1996; PRITCHARD et al., 1996) bzw. Gerstensilage (MCALLISTER et al., 1999) führten bei Weiderindern zu einer Erhöhung des Endgewichts und der täglichen Zunahmen. FENG et al. (1996) berichteten über erhöhte Futteraufnahmen (11,8 vs. 13,2 kg) und

Passageraten (2,61 vs. 3,41 %/ h) bei vier pansenfistulierten Bullen, wenn Enzyme direkt vor der Fütterung auf Heu supplementiert wurden. In einer Untersuchung von SCHWARZ et al. (2006) mit Mastbullen konnten weder durch die Zulage von Celluclast® noch von Roxazyme® in Konzentrationen von 2 und 4 ml/ kg T TMR signifikante Veränderungen von Futteraufnahme und tägliche Zunahmen beobachtet werden. Die dabei im Mittel aller Behandlungen ermittelten Werte betragen 7,56 kg T/ d (Futteraufnahme) und 1534 g/ d (tägliche Zunahme). Auch Enzymzulagen bei Färsen (1,5 ml/ kg T Gerste) (KRAUSE et al.,1998) und Mastbullen (1,65 ml/ kg Grundfutter) (LEWIS et al., 1996) über das Futter führten zu keinen veränderten Futteraufnahmen.

Die vorgestellten Untersuchungen verdeutlichen die Inkonsistenz der Enzymeffekte auf Futteraufnahme und Leistungsparameter. Als entscheidende Faktoren für eine positive Enzymwirkung können jedoch Laktationsstadium und somit Energiebilanz der Milchkühe und eine für jede Ration individuell abgestimmte Enzymzulage genannt werden. Die jedoch vorhandenen positiven Ergebnisse deuten das Potential von vor allem fibrolytischen Enzymen als Futteradditive an und ermuntern sicherlich zu weiteren Forschungsarbeiten in diesem Bereich.

5 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der durchgeführten Versuche demonstrieren das Potential exogen zugeführter Enzyme, einen Beitrag zur Verbesserung der Futtermittelverwertung zu leisten. Die Wirkungsfähigkeit der Futterenzyme scheint jedoch in verstärktem Maße vom Substrat und von der Enzymart bzw. Enzymherkunft abhängig zu sein. Zudem zeichnete sich die Notwendigkeit einer gewissen Mindestkonzentration ab. Das Zulageniveau der Enzyme wurde mit Konzentrationen von 3,39 bis 27,7 g/ kg T bewusst hoch gewählt, da zum einen die Wirkungsweise exogener Enzyme, zum anderen jedoch auch die Möglichkeit einer gewissen Übersupplementierung untersucht werden sollte. Die Wirtschaftlichkeit der Enzymzulage war nicht Gegenstand der Untersuchungen. Bei den in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Enzympräparaten erwiesen sich in besonderer Weise die Produkte Celluclast® 1.5 L, Roxazyme® G2 Liquid, Xylanase (*Bacillus subtilis*) und Cellulase (*Trichoderma reesei*) als geeignete Additive zur Verbesserung der effektiven ruminalen Abbaubarkeit *in situ*. Das Produkt Amylase 7b® zeigte sich lediglich bei Körnermais als effektiv, was für einen Einsatz bei Futtermittel mit hohem Anteil pansenstabiler Stärke spricht. Ein negativer Effekt einer zu hohen Enzymzulage (Überdosierung) konnte bei keinem Präparat ermittelt werden. Bei Betrachtung der T-Verluste *in sacco* zeigten die Enzyme eine verstärkt positive Wirkung innerhalb der ersten acht Inkubationsstunden. Zudem konnte der Enzymeffekt durch ansteigende Passage-raten (≥ 6 %/ h) positiv beeinflusst werden, was für einen Einsatz bei hohen tierischen Leistungsniveaus spricht. Die Auswirkungen der Enzyme auf die *in sacco*-Parameter zeigten sich dagegen als nicht konsistent. Jedoch konnten positive Effekte insbesondere auf die schnell abbaubare bzw. lösliche Fraktion a, die Abbaurate c und vor allem auf die lag time (t_0) beobachtet werden. Dabei zeigte sich bei den Grundfuttermitteln die lag time als entscheidende Grösse. Bei den Kraffuttermitteln erwiesen sich die Fraktion a und die Abbaurate c als bedeutsamer. Eine durch die Enzymzulagen eingeleitete Hydrolyse von Zellwandbestandteilen bereits im Futter vor der Verfütterung wurde anhand des T- und NDF-Verlustes bei den Auswaschverlusten, d.h. vor der ruminalen Inkubation, nachgewiesen. Ein Einfluss des T-Gehaltes der inkubierten Futtermittel auf die Wirkungsfähigkeit der Enzyme im Futter konnte nicht ermittelt werden. Jedoch muss der Art der Enzymapplikation und der Methodik der Ermittlung der Auswaschverluste Beachtung

geschenkt werden, bei welchen eine Erhöhung des Feuchtigkeitsgehaltes der Futtermittel erfolgte. Die enzymatische Beeinflussung der ruminalen Bakterienpopulation wurde im Rahmen dieser Arbeit (ZEITZ, 2007) durch die Bestimmung von sechs Bakterienstämmen untersucht. Dabei zeigte sich eine signifikante Verringerung des Anteils von *Anaerovibrio lipolytica* durch Zulage von Roxazyme® G2 Liquid im Pansen der Versuchstiere, während die restlichen Bakterienstämme nicht signifikant beeinflusst wurden. Diese Tatsache bekräftigt die Vermutung, dass exogene Enzymzulagen verstärkt durch direkte Hydrolyse von Zellbestandteilen sowohl im Futter selbst als auch im Pansen wirken. Einen durch Enzymzulagen eingeleiteten erhöhten ruminalen Abbau durch eine bessere Anheftung von Mikroorganismen an die Zellwandoberflächen kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Eine Förderung von Bakterienstämmen durch die Enzymsupplementation konnte jedoch in der Arbeit von ZEITZ (2007) nicht nachgewiesen werden. Der Einfluss der Enzyme auf pansenphysiologische Parameter (pH, NH₃-N, FFS) wurde in zwei Versuchen ermittelt. Die Ergebnisse erwiesen sich jedoch als nicht gleichgerichtet, so dass eine abschließende Bewertung nicht möglich ist. Die Gesamtverdaulichkeit wurde durch keine Enzymzulage signifikant beeinflusst. Dies kann allerdings mit den geringen Futteraufnahmen der Versuchstiere mit im Mittel 6,2 kg T/ Tier und Tag in Verbindung gebracht werden, bei welchen sich die Verdaulichkeit natürlicherweise auf einem hohen Niveau befindet. Die für eine günstige Enzymwirkung erforderlichen Passageraten von ≥ 6 %/ h, wie es im *in situ*-Versuch nachgewiesen wurde, konnten bei diesem Fütterungsniveau nach AFRC (1993) nicht erreicht werden.

Schlussfolgernd lässt sich festhalten, dass sich eine Enzymapplikation über das Futter positiv auf den ruminalen Futterabbau und somit auf die Futtermittelverwertung auswirken kann. Als entscheidendes Kriterium ist jedoch die Abstimmung zwischen Substrat (Futtermittel) und Enzymprodukt mit einer gewissen notwendigen produktspezifischen Zulagehöhe zu nennen. Zudem ist ein Einsatz im Hochleistungsbereich zu empfehlen, bei welchem durch erhöhte Passageraten und der entsprechenden Versorgungssituation der Tiere (Energiedefizit) ein verstärkt positiver Enzymeffekt zu erwarten ist.

6 Zusammenfassung

In drei Versuchsreihen wurde der Einfluss von exogenen Enzymzulagen in Abhängigkeit unterschiedlicher Konzentrationsstufen auf die effektive ruminale Abbaubarkeit der Trockenmasse (T) verschiedener Futtermittel (n=11) mittels *in situ*-Technik untersucht. In den Versuchsreihen 1 und 2 wurden die Produkte Amylase 7b® (α -Amylase), Celluclast® 1.5 L (Cellulase) und Roxazyme® G2 Liquid (Cellulase:Xylanase-Verhältnis von 1:1) verwendet. In Versuchsreihe 3 wurden weitere drei Enzyme eingesetzt: Xylanase aus *Bacillus subtilis*, Cellulase aus *Trichoderma reesei* und Xylanase aus *Pseudoalteromonas haloplanktis*.

Dazu wurden die beprobten Futtermittel in insgesamt sechs pansenfistulierte trockenstehende Milchkühe für bis zu 72 Stunden (h) inkubiert. Aus den daraus resultierenden T-Verlusten erfolgte die Schätzung folgender Parameter des ruminalen Abbaus: a = schnell abbaubare bzw. lösliche Fraktion, b = unlösliche, abbaubare Fraktion, c = Abbaurate der Fraktion b, d = potentiell abbaubarer Anteil (a + b), sowie die lag time (t_0), welche die Verzögerungszeit zwischen Inkubationsbeginn und dem Beginn des mikrobiellen Abbaus beschreibt. Die effektive ruminale T-Abbaubarkeit wurde für vier angenommene Passageraten (2, 4, 6 und 8 %/ h) ausgehend von der Annahme einer niedrigen, mittleren und hohen Futteraufnahme geschätzt. Als weitere Messkriterien wurden die Gesamtverdaulichkeit der Ration, pansenphysiologische Parameter und der NDF-Verlust nach definierten Inkubationszeiten (0, 4 und 8 h) in Abhängigkeit der Enzymbehandlung bestimmt. Die Versuchsreihen gliederten sich in folgende Einzelversuche:

Versuchsreihe 1

In Versuch V1-1 wurde der Einfluss steigender Zulagen von Amylase 7b® (4,04, 8,08 und 16,2 g/ kg T), Celluclast® 1.5 L (3,39, 6,78 und 13,6 g/ kg T) und Roxazyme® G2 Liquid (6,92, 13,8 und 27,7 g/ kg T) auf die ruminale T-Abbaubarkeit von Maissilage untersucht. Versuch V1-2 beschäftigte sich mit dem futtermittelspezifischen Effekt von Amylase 7b® (8,08 g/ kg T), Celluclast® 1.5 L (6,78 g/ kg T) und Roxazyme® G2 Liquid (27,7 g/ kg T) auf die ruminale Abbaubarkeit von acht Futtermitteln (Körnermais, Gerste, Trockenschnitzel, Biertreber, Heu, Maissilage, Grassilage, TMR). Als weitere Parameter dienten die Gesamtverdaulichkeit der

Ration und die pansenphysiologischen Kenngrößen pH-Wert, NH₃-N und flüchtigen Fettsäuren (FFS).

Versuchsreihe 2

Versuch V2-1 setzte sich mit dem Einfluss einer unterschiedlichen Zulagehöhe von Roxazyme® G2 Liquid (13,8 und 27,7 g/ kg T) auf die ruminale Abbaubarkeit von neun Futtermitteln (Gerste, Biertreber, Getreideschlempe, Heu, Maissilage, Grassilage, TMR, Raps- und Sonnenblumenextraktionsschrot) auseinander. Die Gesamtverdaulichkeit der Ration und die pansenphysiologischen Parameter pH-Wert, NH₃-N und FFS waren ebenfalls Gegenstand der Untersuchung. Zusätzlich wurde im Rahmen dieses Versuches der Einfluss des Enzymproduktes auf sechs ruminale Bakterienstämme ermittelt (ZEITZ, 2007).

Versuchsreihe 3

In Versuch V3-1 wurde der Effekt von Xylanase (*Bacillus subtilis*), Cellulase (*Trichoderma reesei*) und Xylanase (*Pseudoalteromonas haloplanktis*) in gleicher Konzentration (27,7 g/ kg T) auf die ruminale Abbaubarkeit von Gerste, Biertreber, Getreideschlempe, Heu, Maissilage und Grassilage festgestellt.

Versuch V3-2 setzte sich mit dem Einfluss unterschiedlicher Zulagehöhen (6,92, 13,8 und 27,7 g/ kg T) der Enzyme Xylanase (*Bacillus subtilis*) und Cellulase (*Trichoderma reesei*) auf den T-Verlust von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe bzw. Heu, Maissilage und Grassilage auseinander.

In den Versuchen V1-1, V3-1 und V3-2 wurden die Enzyme nur auf das inkubierte Probenmaterial supplementiert. In den Versuchen V1-2 und V2-1 erfolgte die Enzymzugabe zudem in gleicher Konzentration auf die verfütterte Tagesration.

Bei den in den Versuchsreihen 1 und 2 eingesetzten Produkten erwiesen sich Celluclast® und insbesondere Roxazyme® als geeignete Additive zur Verbesserung der effektiven ruminale T-Abbaubarkeiten. Während in Versuch V1-1 bei Celluclast® ein positiver Bezug zwischen Höhe der Zulage und Wirkungsfähigkeit beobachtet werden konnte, zeigte Roxazyme® nur bei der höchsten Dosierung (27,7 g/ kg T) signifikante Verbesserungen im ruminale Abbau der Maissilage.

Die Zulage von Roxazyme® bewirkte auch bei den in Versuch V1-2 beprobten Futtermitteln Gerste, Biertreber, Maissilage und Grassilage die signifikant höchsten effektiven T-Abbaubarkeiten. Die Applikation von Amylase 7b® führte nur bei Körnermais zu einem signifikant höheren ruminalen Abbau. Trockenschnitzel, Heu und TMR wurden durch keine Enzymzulage in ihrer Abbaubarkeit beeinflusst.

Auch in Versuch V2-1 der Versuchsreihe 2 wurden durch die Supplementierung von Roxazyme® in der hohen Konzentration (27,7 g/ kg T) auf Gerste, Biertreber, Getreideschlempe und Grassilage die signifikant höchsten effektiven T-Abbaubarkeiten in Bezug zur Kontrolle berechnet.

Von den in Versuchsreihe 3 untersuchten Enzymen zeigten Xylanase (*Bacillus subtilis*) und Cellulase (*Trichoderma reesei*) einen positiven Effekt auf die ruminale T-Abbaubarkeit bei Grassilage und Heu. Maissilage, Gerste, Biertreber und Getreideschlempe wurden nicht signifikant beeinflusst (Versuch V3-1). In Versuch V3-2 führte die Zulage von Xylanase (*Bacillus subtilis*) bereits ab der geringsten Dosierung (6,92 g/ kg T) zu signifikant höheren T-Verlusten bei den Kraftfuttermitteln Gerste, Biertreber und Getreideschlempe. Der Effekt von Cellulase (*Trichoderma reesei*) auf den T-Verlust *in sacco* von Maissilage, Grassilage und Heu stieg hingegen mit Höhe der Zulage.

Bei einer insgesamt Betrachtung der T-Verluste über alle Versuche zeigten die Enzyme vorrangig innerhalb der ersten acht Inkubationsstunden signifikant positive Effekte. Diese Verbesserungen hatten jedoch nicht immer signifikant höhere effektive ruminale Abbaubarkeiten zur Folge. Eine Erhöhung der Passagerate erwies sich als positiv für die Enzymeffektivität auf die ruminale Abbaubarkeit der Futtermittel. Der Einfluss auf die Parameter des ruminalen Abbaus (a, b, c und t_0) war enzym- und futtermittelspezifisch. Es zeichnete sich jedoch verstärkt eine Erhöhung der löslichen Fraktion a und/ oder der Abbaurate c und insbesondere eine Verringerung der lag time (t_0) ab.

Durch die Bestimmung der T- und NDF-Auswaschverluste in Abhängigkeit der Enzymzulage konnte eine Hydrolyse der Zellbestandteile bereits im Futter vor der Verfütterung nachgewiesen werden.

Die Gesamtverdaulichkeit der Ration und der $\text{NH}_3\text{-N}$ -Gehalt in der Pansenflüssigkeit der Versuchstiere wurden durch keine Enzymzulage signifikant zur Kontrollbehandlung beeinflusst.

Die Amylasezulage in Versuch V1-2 bewirkte kurz nach der Fütterung eine signifikante Verringerung des Pansen-pHs gegenüber der Kontrolle. Bei Betrachtung der flüchtigen Fettsäuren konnten an einigen Entnahmezeiten signifikante Unterschiede durch Enzymzulagen in Bezug zur Kontrolle beobachtet werden. Im Mittel aller Entnahmezeiten bewirkte jedoch nur die Roxazymezulage (27,7 g/ kg T) aus Versuch V1-2 eine signifikant geringere Essigsäurekonzentration, was sich auch in einer signifikant geringeren FFS-Gesamtkonzentration widerspiegelte. Dieser Effekt konnte jedoch in Versuch V2-1 nicht bestätigt werden. Eine positive Beeinflussung der ruminalen Bakterienpopulation konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit (ZEITZ, 2007) nicht nachgewiesen werden.

7 Summary

In three experimental periods the influence of various levels of direct-fed enzymes on the effective ruminal degradability of different feedstuffs (n=11) was investigated. The products Amylase 7b® (α -amylase), Celluclast® 1.5 L (cellulase) and Roxazyme® G2 Liquid (1:1 combination of cellulase and xylanase) were used in the experimental periods 1 and 2. In period 3 following three other enzymes were applied: xylanase from *Bacillus subtilis*, cellulase from *Trichoderma reesei* and xylanase from *Pseudoalteromonas haloplanktis*.

The feedstuffs were incubated in six non lactating dairy cows fitted with ruminal cannulae up to 72 hours for determination of dry matter (DM) disappearance using the nylon bag technique. Then ruminal degradation parameters were fitted to an exponential model and the following parameters were estimated: a = soluble fraction, b = insoluble, but ruminally degradable fraction, c = degradation rate of fraction b, d = potentially degradable fraction (a + b) and lag phase, which describes the delay between the beginning of rumen incubation and microbial degradation. The effective degradability was estimated based on these parameters and assuming passage rates of 2, 4, 6 and 8 %h⁻¹. Further parameters measured were the disappearance of NDF of the feedstuffs after defined incubation times (0, 4 or 8 hours), rumen characteristics and the total apparent digestibility. The experimental periods were demerged on five single trials:

Experimental period 1

The effect of increasing supplements of Amylase 7b® (4.04, 8.08 and 16.2 g/kg DM), Celluclast® 1.5 L (3.39, 6.78 and 13.6 g/kg DM) and Roxazyme® G2 Liquid (6.92, 13.8 and 27.7 g/kg DM) on the effective degradability of maize silage was investigated in trial 1-1 (T1-1). The aim of trial 1-2 (T1-2) was to evaluate the feedstuff-specific effects of Amylase 7b® (8.08 g/kg DM), Celluclast® (6.78 g/kg DM) and Roxazyme® (27.7 g/kg DM) on the ruminal degradation of corn, barley, sugar beet pulp, brewers grains, hay, maize silage, grass silage and TMR (total mixed ration). Further on, the total apparent digestibility of the diet and the rumen characteristics pH, NH₃N and volatile fatty acids (VFA) were measured.

Experimental period 2

The enzyme used (Roxazyme® G2 Liquid) in trial 2-1 (T2-1) was added in two different concentrations (13.8 and 27.7 g/kg DM) onto nine feedstuffs (barley, distillers grains, brewers grains, rapeseed meal, sunflower meal, maize silage, grass silage, hay, TMR) for determination of the ruminal degradability. Other parameters were the total apparent digestibility and the rumen characteristics pH, NH₃N and VFA. In addition, the influence of the enzyme product on six ruminal microbial strains was investigated (ZEITZ, 2007).

Experimental period 3

In trial 3-1 (T3-1) the effect of the enzymes xylanase (*Bacillus subtilis*), cellulase (*Trichoderma reesei*) and cellulase (*Pseudoalteromonas haloplanktis*) in the same dosage (27.7 g/ kg DM) on the effective degradability of six feedstuffs (barley, distillers grains, brewers grains, maize silage, grass silage, hay) was analyzed. The objective of trial 3-2 (T3-2) was to examine different supplements (6.92, 13.8 and 27 g/ kg DM) of xylanase (*Bacillus subtilis*) and cellulase (*Trichoderma reesei*) on the DM disappearance of barley, distillers grains, brewers grains and maize silage, grass silage, hay, respectively.

The enzymes of trails T1-1, T3-1 and T3-2 were added only onto the feedstuffs in the nylon bags. In addition, the enzymes used in trial T1-2 and T2-1 were sprayed in the same concentration onto the daily ration (TMR).

Celluclast® and in particular Roxazyme® were the most effective products of the experimental periods 1 and 2 to enhance the ruminal degradability of feedstuffs. The effect of Celluclast® in T1-1 on DM disappearance increased with the dosage of supplementation. Roxazyme® showed only in the highest concentration (27,7 g/ kg DM) significant improvements on the ruminal degradation of maize silage. Also in T1-2 the supplementation of Roxazyme® resulted in the significant ($p < 0.05$) highest effective degradabilities of the feedstuffs barley, brewers grains, maize silage and grass silage. The application of Amylase 7b® effected only a higher ruminal degradation of corn. The rates of digestion of suger beet pulp, hay and the TMR measured *in sacco* were not affected by enzyme supplementation.

In T2-1 the high amount of supplementation of Roxazyme® G2 Liquid significantly ($p < 0.05$) improved the DM degradability of grass silage, barley, brewers grains and distillers grains. The high concentration was mostly more effective than the low concentration.

In T3-1 the ruminal degradations of grass silage and hay were positively affected by the supplementation of xylanase (*Bacillus subtilis*) and cellulase (*Trichoderma reesei*). The effective degradabilities of maize silage, barley, brewers grains and distillers grains were not significantly influenced by enzyme additives. The low concentration of xylanase (*Bacillus subtilis*) in T3-2 was sufficient to increase significantly ($p < 0.05$) DM disappearance of barley, brewers grains and distillers grains. In contrast the effect of cellulase (*Trichoderma reesei*) on DM disappearance of maize silage, grass silage and hay increased with the dosage of supplementation.

The observation over all trials showed a positive effect of enzyme on the DM disappearance of the feedstuffs particularly within the first 8 hours of incubation. But these improvements of DM disappearance resulted not always in significant higher effective ruminal degradabilities. A higher passage rate of the diet proved to be positive for the effect of enzyme on the ruminal degradation of feedstuffs.

Depending on the feedstuff the soluble fraction (a), the rate of disappearance (c) of the insoluble, but ruminally degradable fraction b and the lag time at beginning of incubation was influenced positively.

The determination of the wash out fraction of DM and NDF showed a pre-ingestive attack of the enzymes upon the plant fiber. The digestibility of organic matter, crude fiber, NDF and starch in the total tract and the ruminal NH_3N concentration were not significantly affected by enzyme additives. In T1-2 ruminal pH (1-2 hours after feeding) was lower ($p < 0.05$) in amylase group than in the control group. The VFA concentrations were affected at some sampling times because of enzyme application. But in comparison of the means of all sampling times only the supplementation of Roxazyme® in T1-2 showed significant lower acetate and VFA concentrations compared to the control group. This effect of enzyme was not confirmed in T2-1. There was no positive influence of enzyme on ruminal bacterial population (ZEITZ, 2007).

8 Literaturverzeichnis

- AFRC (Agricultural and Food Research Council), 1993: Energy and protein requirements of ruminants. CAB International, Wallingford, UK, 159pp
- AKIN, D.E. und BORNEMAN, W.S., 1990: Role of rumen fungi in fiber degradation. *J. Dairy Sci.* 73, 3023-3032
- ALI, B.R.S., ZHOU, L., GRAVES, F.M., FREEDMAN, R.B., BLACK, G.W., GILBERT, H.J., HAZLEWOOD, G.P., 1995: Cellulases and hemicellulases of the anaerobic fungus *Piromyces* constitute a multiprotein cellulose-binding complex and are encoded by multigene families. *FEMS Microbiol. Lett.* 125, 15-22
- ARC (Agriculture Research Council), 1984: The nutrient requirements of ruminant livestock, Supplement No. 1, Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, England
- ARMENTANO, L.E., 1992: Ruminant hepatic metabolism of volatile fatty acids, lactate and pyruvate. *J. Nutr.* 122, 838-842
- BAAR, B.K., HSIEH, Y.-L., GANEM, B., WILSON, D.B., 1996: Identification of two functionally different classes of exocellulases. *Biochemistry* 35, 586-592
- BAYER, E.A., MORAG, E., LAMED, R., 1994: The cellulosome – a treasure trove for biotechnology. *Trends. Biotechnol.* 12, 379-386
- BEAUCHEMIN, K.A. und RODE, L.M., 1996: Use of feed enzymes in ruminant nutrition. In *Animal Science Research and Development-Meeting Future Challenges* (L.M., Rode Hrsg.). Minister of Supply and Services Canada, Ottawa, ON, pp. 103-131
- BEAUCHEMIN, K.A., COLOMBATTO, D., MORGAVI, D.P., YANG, W.Z., 2003: Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim. Sci.* 81, 37-47
- BEAUCHEMIN, K.A., JONES, S.D.M., RODE, L.M., SEWALT, V.J.H., 1997: Effects of fibrolytic enzyme in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 77, 645-653
- BEAUCHEMIN, K.A., Rode, L.M., Karren, D., 1999b: Use of feed enzymes in feedlot finishing diets. *Can. J. Anim. Sci.* 79, 243-246
- BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., MAEKAWA, M., MORGAVI, D.P., KAMPEN, R., 2000: Evaluation of a non-starch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diet. *J. Dairy Sci.* 83, 543-553
- BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., SEWALT, V.J.H., 1995: Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages, *Can. J. Anim. Sci.* 75, 641-644

- BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., YANG, W.Z., McALLISTER, T.A., 1998: Use of feed enzymes in ruminant nutrition. Proc. 33rd Pacific Northwest Nutr. Conf., Vancouver, British Columbia, pp. 121-135
- BEAUCHEMIN, K.A., YANG, W.Z., RODE, L.M., 1999a: Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. J. Dairy. Sci. 82, 378-390
- BEDFORD, M.R., 1993: Mode of action of feed enzymes. J. Appl. Poult. Res. 2, 85-92
- BÉGUIN, P und LEMAIRE, M, 1996: The cellulosome: an exocellular, multiprotein complex specialised in cellulose degradation. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 31, 201-236
- BÉGUIN, P. und AUBERT, J.P., 1994: The biological degradation of cellulose. FEMS Microbiol. Rev. 13, 25-58
- BHAT, K.M., GAIKWAD, J.S., MAHESHWARI, R., 1993: Purification and characterisation of an extracellular β -glucosidase from the thermophilic fungus *Sporotrichum thermophile* and its influence on cellulase activity. J. of General Microbiol. 139, 2825-2832
- BHAT, M.K. und HAZLEWOOD, G.P., 2001: Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases. In Enzymes in Farm Animal Nutrition (M., Bedford und G., Partridge Hrsg.), CABI Publishing, Oxon, U.K., p. 11
- BÖNING, A. und MEYER, U., 2006: Effect of nonstarch polysaccharides (NSP) hydrolysing enzyme supplementation of a total mixed ratio (TMR) on performance of lactating dairy cows. Proc. Soc. Physiol. 15, p. 51
- BOWMAN, G.R., 2001: Digestion, ruminal pH, salivation, and feeding behaviour of lactating dairy cows fed a diet supplemented with fibrolytic enzymes. M.S. Thesis, Univ. of British Colombia, Vancouver, Canada
- BRANDT, M., SCHULDT, A., MANNERKORPI, P., VEARASILP, T., 1987: Zur enzymatischen Stärkebestimmung im Darminhalt und Kot von Kühen mit hitzestabiler Amylase. Arch. Anim. Nutr. 37, 455
- BROCK, F.M., FORSBERG, C.W., BUCHANAN-SMITH, J.G., 1982: Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. Appl. Environ. Microbiol. 44, 561-569
- BURROUGHS, W., WOODS, W., EWING, S.A., GREIG, J., THEURER, B., 1960: Enzyme additions to fattening cattle rations, J. Dairy Sci. 78, 1721-1727
- CHESSON, A. und FORSBERG, C.W., 1988: Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In The Rumen Microbial Ecosystem (P.N., Hobson Hrsg.). Elsevier Applied Science, London & New York, 251-285

- CHESSON, A., 1994: Manipulation of fibre degradation: an old theme revisited. In Biotechnology in feed industry (T.P., Lyons und K.A., Jacques Hrsg.). Proc. Alltechs 10th Ann. Symp., Nottingham University Press, Loughborough, UK, pp. 83-98
- CHRISTAKOPOULOS, P., GOODENOUGH, P.W., KEKOS, D., MACRIS, B.J., CLAEYSSSENS, M., BHAT, M.K., 1994: Purification and characterisation of an extracellular β -glucosidase with transglycosilation and exoglucosidase activities from *Fusarium oxysporum*. European J. of Biochemistry 224, 379-385
- CLARK, J.D., DYER, I.A., TEMPLETON, J.A., 1961: Some nutritional and physiological effects of enzymes for fattening cattle. J. Anim. Sci. 20, 928
- CLARK, J.H., KLUSMEYER, T.H., CAMERON, M.R., 1992: Symposium: Nitrogen Metabolism and Amino Acid Nutrition in Dairy Cows. J. Dairy. Sci. 75: 2304-2323
- COLEMAN, G.S., 1985: Possible causes of rumen ciliate protozoa. FEMS Microbiol. Rev. 39, 321-344
- COLOMBATTO, D., 2000: Use of enzymes to improve fiber utilization in ruminants. A biochemical and in vitro rumen degradation assessement. Ph.D. Diss., Univ. of Reading, U.K.
- COLOMBATTO, D., HERVÁS, G., YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A., 2003: Effects of enzyme supplementation of a total mixed ration on microbial fermentation in continuous culture, maintained at high and low pH. J. Anim. Sci. 81: 2617-2627
- COLOMBATTO, D., MOULD, F.L., BHAT, M.K., OWEN, E., 2007: Influence of exogenous fibrolytic enzyme level and incubation pH on the in vitro ruminal fermentation of alfalfa stems. Anim. Feed Sci. Techn. 137, 150-162
- CONSIDINE, P.J. und COUGHLAN, M.P., 1989: Production of carbohydrate-hydrolyzing enzyme blends by solid-state fermentation. In Enzyme systems for Lignocellulose Degradation (M.P., Coughlan Hrsg.). Elsevier Applied Science, New York, pp. 273-281
- COTTA, M.A., 1988: Amylolytic activity of selected species of ruminal bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 54, 772-776
- COUGHLAN, M.P., 1992: Towards an understanding of the mechanism of action of main chain-hydrolysing xylanases. In Xylans and Xylanases (J., Visser, G., Beldman, M.A., Kusters-van Someren, A.G.J., Voragen Hrsg.). Progress in Biotechnology, Vol. 7. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 111-139
- COUGHLAN, M.P., TUOHY, M.A., FILOH, E.X.F., PULS, J., CLAEYSSSENS, M., VRANSKA, M., HUGHES, M.M., 1993: Enzymological aspects of microbial hemicellulases with emphasis on fungal systems. In Hemicellulose and Hemicellulases (M.B., Coughlan und G.P., Hazlewood Hrsg.). Portland Press, London, pp. 53-84

- COWAN, W.D., 1994: Factors affecting the manufacture, distribution, application and overall quality of enzymes in poultry feeds. In Joint Proc. 2nd Int. Roundtable on Anim. Feed Biotechnol. – Probiotics, and Workshop on Anim. Feed Enzymes, Ottawa, pp. 175-184
- DEHORITY, B.A. und ORPIN, C.G., 1997: Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations. In The Rumen Microbial Ecosystem (P.N., Hobson und C.S. Stewart Hrsg.). Second Edition, Chapman & Hall, London, pp. 196-245
- DEMEYER, D.I. und VAN NEVEL, C., 1986: Influence of substrate and microbial interaction on efficiency of rumen microbial growth. *Reprod. Nutr. Develop.* 26, 161-179
- DEMEYER, D.I., 1981: Rumen microbes and digestion of plant cell walls. *Agric. Environ.* 6, 295-337
- DHIMAN, T.R., ZAMAN, M.S., GIMENEZ, R.R., WALTERS, J.L., TREACHER, R., 2002: Performance of dairy cows fed forage treated with fibrolytic enzymes prior to feeding. *Anim. Feed Sci. Techn.* 101, 115-125
- DIJKSTRA, J.J., MEYER, U., LEBZIEN, P., 2006: Effect of different concentrations of NSP-hydrolysing enzymes on in sacco DM degradation of silages. *Proc. Soc. Physiol.* 15, p. 70
- DOERNER, K.C. und WHITE, B.A., 1990: Assesement of the endo- β -1,4-glucanase components of *Ruminococcus flavefaciens* FD-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1844-1850
- DÖNMEZ, N, KARSLI, M.A., CINAR, A., AKSU, T., BAYTOK, E., 2003: The effects of different silage additives on rumen protozoan number and volatile fatty acid concentration in sheep fed corn silage. *Small Ruminant Research* 48, 227-231
- DUNCAN, D.B., 1955: Multiple F-test. *Biometrics* 11, 1-42
- ELWAKEEL, E.A., TITGEMEYER, E.C., JOHNSON, B.J., ARMENDARIZ, C.K., SHIRLEY, J.E., 2007: Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 90: 5226-5236
- ENGELS, F.M., 1987: Changes in the physical, chemical structures of cell walls during growth and degradation. In *Degradation of lignocellulosics in ruminants and industrial processes* (J.M., Van der Meer, B.A., Rijkens, M.P., Ferranti Hrsg.). Elsevier Applied Science, London, pp. 13-20
- EUN, J.-S, BEAUCHEMIN, K.A., SCHULZE, H., 2007: Use of exogenous enzymes to enhance in vitro fermentation of alfalfa hay and corn silage. *J. Dairy Sci.* 90: 1440-1451
- EUN, J.-S. und BEAUCHEMIN, K.A., 2007: Assesement of the efficacy of varying experimental exogenous fibrolytic enzymes using in vitro fermentation characteristics. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 132, 298-315

- FENG, P., HUNT, C.W., PRITCHARD, G.T., JULIEN, W.E., 1996: Effect of enzyme preparations on in situ and in vitro degradation and in vivo digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. *J. Anim. Sci.* 74, 1349-1357
- FLACHOWSKY, G., SCHNEIDER, M., OCHRIMENKO, W.I., RICHTER, G.H., LÖHNERT, H.-J., 1988: Methodische Hinweise zur Anwendung der Nylonbeuteltechnik beim Wiederkäuer. Schriftenreihe der Lehrgangseinrichtung für Fütterungsberatung Jena-Jemderoda 11, 20-26
- FLINT, H.J., ZHANG, J.X., MARTIN, J., 1994: Multiplicity and expression of xylanases in the rumen cellulolytic bacterium *Ruminococcus flavefaciens*. *Curr. Microbiol.* 29, 139-143
- FONDEVILA, M., NEWBOLD, C.J., HOTTEN, P.M., OERSKOV, E.R., 1990: A note on the effect of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the rumen fermentation of sheep given straw. *Anim. Prod.* 51, 422-425
- FONTES, C.M.G.A., HALL, J., HIRST, B.H., HAZLEWOOD, G.P., GILBERT, H.J., 1995: The resistance of cellulases and xylanases to proteolytic inactivation. *Appl. Microbial Biotech.* 43, 52-57
- FORSBERG, C.W. und CHENG, K.-J., 1992: Molecular strategies to optimize forage and cereal digestion by ruminants. In *Biotechnology and Nutrition* (D.D., Bills und S.-D., Kung Hrsg.). Butterworth Heinemann, Stoneham, pp. 107-147
- FORSBERG, C.W., CHENG, K.-J. WHITE, B.A., 1997: Polysaccharide degradation in the rumen and large intestine. In *Gastrointestinal Microbiology* (R.I., Mackie, B.A., White, R.E., Isaacson Hrsg.). Chapman und Hall, New York, pp. 319-379
- FORWOOD, J.R., SLEPER, D.A., HENNING, J.A., 1990: Topical cellulase application effects on tall fescue digestibility. *Agron. J.* 82, p. 909
- FULGHUM, R.S. und MOORE, W.E.C., 1963: Isolation, enumeration and characteristics of proteolytic ruminal bacteria. *J. Bacteriol.* 85, 808-815
- GASHE, B.A., 1992: Cellulase production and activity by *Trichoderma sp. A-001*. *J. Appl. Bact.* 73, 79-82
- GEISSLER, CH., HOFFMANN, M., HICKEL, B., 1976: Ein Beitrag zur gaschromatographischen Bestimmung flüchtiger Fettsäuren. *Arch. Tierern.* 26, 123-129
- GHOSE, T.K., 1987: Measurement of cellulase activity. *Pure Appl. Chem.* 59, 257-268
- GIRALDO, L.A., TEJIDO, M.L., RANILLA, M.J., CARRO, M.D., 2007a: Effects of exogenous cellulase supplementation on microbial growth and ruminal fermentation of a high-forage diet in Rusitec fermenters. *J. Anim. Sci.* 85, 1962-1970
- GIRALDO, L.A., TEJIDO, M.L., RANILLA, M.J., CARRO, M.D., 2007b: Effects of exogenous fibrolytic enzymes on in vitro ruminal fermentation of substrates with different forage:concentrate rations. *Anim. Feed. Sci. and Technol.*, Corrected Proof

- GOERING, H.K. und VAN SOEST, P.J., 1970: Forage fiber analysis. USDA, ARS, Agric. Handbook No. 379, Washington, DC, 20
- GORDON, G.L.R., 1986: The potential for manipulation of rumen fungi. *Rev. Rural Sci.* 6, 124-128
- GREVE, L.C., LABAVITCH, J.M., HUNGATE, R.E., 1984: β -1-Arabinofuranosidase from *Ruminococcus albus* 8: Purification and possible role in the hydrolysis of alfalfa cell wall. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 1135-1140
- GWAYUMBA, W. und CHRISTENSEN, D.A., 1997: The effect of fibrolytic enzymes on protein and carbohydrate degradation fractions in forages. *Can. J. Anim. Sci.* 77, 541-542
- HAZLEWOOD, G.P. und GILBERT, H.J., 1998: Structure-function relationships in the cellulase-hemicellulase system of anaerobic fungi. In *Carbohydrases from Trichoderma reesei and Other Microorganisms – Structure, Biochemistry, Genetics and Applications* (M., Claeysens, W., Nerinckx, K., Piens Hrsg.). Proceedings of Tricel '97 Meeting, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 147-155
- HIGGINBOTHAM, G.E., DEPETERS, E.J., BERRY, S.L., AHMADI, A., 1996: Effect of adding a cell wall degrading enzyme to a total mixed ration for lactating dairy cows. *Proc. Anim. Sci.* 12, 81-85
- HOBSON P.N. und STEWART C.S., 1997: *The Rumen Microbial Ecosystem*, Blackie Academic & Professional, London
- HOBSON, P.N. und SUMMERS, R., 1976: The continuous culture of anaerobic bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 47, 53-58
- HOBSON, P.N., SUMMERS, R., POSTGATE, J.R., WARE, D.A., 1973: Nitrogen fixation in the rumen of a living sheep. *J. Gen. Microbiol.* 77, 225-226
- HOOVER, W.H., KINCAID, C.R., VARGA, G.A., THAYNE, W.V., JUNKINS, L.L.Jr., 1984: Effects of solids and liquid flows of fermentation in continuous cultures. IV. pH and dilution rates. *J. Anim. Sci.* 58, 692-699
- HOUTERT, M.F.J., 1993: The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages: a review. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 43, 189-225
- HRISTOV, A.N., MCALLISTER, T.A., CHENG, K.-J., 1998a: Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzymes in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 76, 161-168
- HRISTOV, A.N., MCALLISTER, T.A., TREACHER, R.J., CHENG, K.-J., 1998b: Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzyme supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility. *J. Anim. Sci.* 76, 3146-3156

- HRISTOV, A.N., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., WUERFEL, R.L., 1996: Effect of a commercial enzyme preparation on barley silage in vitro and in sacco dry matter degradability. Proc. Western Sect. Amer. Soc. Anim. Sci. 47, 282-284
- HUHTANEN, P., 1991: Associative effect of feeds in ruminants. Norwegian J. Agricul. Sci. Suppl. 5, 37-57
- IWASSA, A.D., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., EIVEMARK, K.A., 1997: Effect of fibrolytic enzymes in barley-based diets on performance of feedlot cattle and in vitro gas production. In Evolution of the Rumen Microbial Ecosystem, Joint RRI-INRA Rumen Microbiology Symposium, Aberdeen, Scotland, Poster 39
- JENKINSON, H.F., BUTTERY, P.J., LEWIS, D., 1979: Assimilation of ammonia by *Bacteroides amylophilus* in chemostat cultures. J. Gen. Microbiol. 113, 305-313
- JEROCH, H., DROCHNER, W., SIMON, O., 1999: Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, Stuttgart
- JURKOVICH, V, KUTASI, J., FÉBEL, H., REICZIGEL, J., BRYDL, E., KÖNYVES, L., RAFAI, P., 2006: Rumen fermentation response to a direct-fed xylanase enzyme preparation from *Thermomyces lanuginosus* in sheep. Acta Vet. Hung. 54, 333-342
- KIRCHGESSNER, 1997: Tierernährung, VerlagsUnion Agrar, Gießen
- KIRCHHOF, S., 2007: Kinetik des ruminalen *in situ*-Nährstoffabbaus von Grünlandaufwüchsen des Alpenraums unterschiedlicher Vegetationsstadien sowie Maissilagen und Heu – ein Beitrag zur Weiterentwicklung der Rationsgestaltung für Milchkühe, Dissertation, Universität Kiel
- KRAUSE, D.O. und PELL, A.N., 2003: Plant cell wall degradation in the rumen: Ecology, Constraints to digestion and modelling. In VI International symposium on nutrition of herbivores (L., Mannelje Hrsg.). Universidad Autonoma de Yucatan, Merida, Mexico, 19-24 October, 2003, 129-150
- KRAUSE, M., BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., FARR, B.I., NØRGAARD, P., 1998: Fibrolytic enzyme treatment of barley grain and source of forage in high-grain diets fed to growing cattle. J. Anim. Sci. 76: 2912-2920
- KRUEGER, N.A. und ADESOGAN, A.T., 2007: Effects of different mixtures of fibrolytic enzymes on digestion and fermentation of bahiagrass hay. Anim. Feed. Sci. and Technol., Corrected Proof
- KUNG, L., TREACHER, R.J., NAUMAN, G.A., SMAGALA, A.M., ENDRES, K.M., COHEN, M.A., 2000: The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 83, 115-122
- KUTASI, J., BATA, A., BRYDL, E., RAFAI, P., JURKOVICH, V, 2001: Characterisation and effects of a xylanase enzyme preparation extracted from *Thermomyces lanuginosus* cultures. Acta Vet. Hung. 49, 175-184

- LEE, B., POMETTO, A.L., DEMICI, A., HINZ, P.N., 1998: Media evaluation for the production of microbial enzymes. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4775-4778
- LEEDLE J.A., BRYANT, M.P., HESPELL, R.P., 1982: Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animals fed low- or high-forage diets. *Appl. Environ. Microbiol.* 44 (2), 402-412
- LEEK, B.F., 1993: Digestion in the ruminant stomach. In *Dukes` Physiology of Domestic Animals* (M.J., Swenson und W.O., Reece Hrsg.). 11th edition, Comstock Publishing Associates, Ithaca/ London, pp. 387-416
- LEHNINGER, A.L., 1982: *Principles of Biochemistry*, Worth Publishers, Inc., New York
- LENG, R.A. und NOLAN, J. V., 1984: Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 67, 1072-1089
- LENG, R.A., 1990: Factor affecting the utilisation of poor quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Res. Rev.* 3, 277-303
- LEWIS, G.E., HUNT, C.W., SANCHEZ, W.K., TREACHER, R., PRITCHARD, G.T., FENG, P., 1996: Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *J. Anim. Sci.* 74, 3020-3028
- LEWIS, G.E., SANCHEZ, W.K., HUNT, C.W., GUY, M.A., PRITCHARD, G.T., SWANSON, B.I., TREACHER, R.J., 1999: Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the lactational performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 611-617
- LOWE, S.E., THEODOROU, M.K., TRINCI, A.P.J., 1987: Cellulases and xylanase of an anaerobic rumen fungus grown on wheat straw, wheat straw holocellulose, cellulose and xylan. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1216-1223
- LUCHINI, N.D., BRODERICK, G.A., HEFNER, D.L., DEROSA, R., REYNAL, S., TREACHER, R., 1997: Production response to treating forage with fibrolytic enzymes prior to feeding to lactating cows. *J. Dairy Sci.* 80, Suppl. 1, p. 262
- LYND, L.R., WEIMER, P.J., VAN ZYL, W.H., PRETORIUS, I.S., 2002: Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66, 506-577
- MADSEN, J. und HVELPLUND, T., 1994: Prediction of in situ protein degradability in the rumen. Results of an european ringtest. *Livestock Prod. Sci.* 39, 201-212
- MALBURG, L.M. und FORSBERG, C.W., 1993: *Fibrobacter succinogenes* possesses at least nine distinct glucanase genes. *Can. J. Microbiol.* 39: 882-891
- MARQUARDT, D.W., 1963: An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics* 11, 431-441

- MARTIN, S., 2000: Use of fungi and organic acids in animal diets. In Direct-Fed Microbial, Enzyme and Forage Additive Compendium (S., Muirhead Hrsg.). The Miller Publishing Co., Minnetonka, MN, p. 34
- MATTE, A. und FORSBERG, C.W., 1992: Purification, characterization and mode of action of endoxylanases 1 and 2 from *Fibrobacter succinogenes* S85. Appl. Environ. Microbiol. 58, 157-168
- MCALLISTER, T.A., HRISTOV, A.N., BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., CHENG, K.-J., 2001: Enzymes in Ruminant Diets. In Enzymes in farm animal nutrition (M.R., Bedford und G.G., Partridge Hrsg.). CABI Publishing, Wallingford, New York, pp. 273-298
- MCALLISTER, T.A., OOSTING, S.J., POPP, J.D., MIR, Z., YANKE, L.J., HRISTOV, A.N., TREACHER, R.J., CHENG, K.-J., 1999: Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. Can. J. Anim. Sci. 79, 353-360
- MCCARTHY, R.D., KLUSMEYER, T.H., VICINI, J.L., CLARK, J.H., NELSON, D.R., 1989: Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. J. Dairy Sci. 72, 2002-2016
- MCCLEARLY, B.V., 2001: Analysis of feed enzymes. In Enzymes in Farm Animal Nutrition (M., Bedford, und G., Partridge Hrsg.). CABI Publishing, Oxon, U.K., pp. 85-107
- MCDONALD, I., 1981: A revised model for estimation of protein degradability in the rumen. J. Agric. Sci. (Camb.) 96, 251-252
- MICHAL, J.J., JOHNSON, K.A., TREACHER, R.J., GASKINS, C.T., SEARS, O., 1996: The impact of direct fed fibrolytic enzymes on the growth rate and feed efficiency of growing beef steers and heifers. J. Anim. Sci. 74, Suppl. 1, p. 296
- MILLER, D.R., GRANZIN, B.C., ELLIOTT, R., NORTON, B.W., 2007: Effects of an exogenous enzyme, Roxazyme® G2 Liquid, on milk production in pasture fed dairy cows. Anim. Feed. Sci. and Technol., Corrected Proof
- MINATO, H., ENDO, A., OOTOMO, Y., UEMURA, T., 1966: Ecological treatise on the rumen fermentation. II. The amylolytic and cellulolytic activities of fractionated bacterial portions attached to the rumen solids. Journal of General Applied Microbiology 12, 53-69
- MINATO, H., MITSUMORI, M., CHENG, K.-J., 1993: Attachment of microorganisms to solid substrates in the rumen. In Genetics, Biochemistry and Ecology of Lignocellulose Degradation (K., Shimada Hrsg.). Uni Publishers Co., Tokyo, 139-145
- MIR, P.S., MEARS, G.J., MIR, Z., MORGAN JONES, S.D., 1998: Effects of increasing dietary grain on viscosity of duodenal digesta and plasma hormone and glucose concentrations in steers. J. Anim. Sci. 76, Suppl. 1, p. 247

- MITSUMORI, M. und MINATO, H., 1997: Cellulose-binding proteins from rumen microorganisms. In Rumen microbes and digestive physiology in ruminants (R., Ondera Hrsg.). Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, Basel, 35-45
- MORGAVI D.P., BEAUCHEMIN, K.A., NSEREKO, V.L., RODE, L.M., IWAASA, A.D., YANG, W.Z., MCALLISTER, T.A., WANG, Y., 2000b: Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. J. Dairy Sci. 83: 1310-1321
- MORGAVI, D.P., BEAUCHEMIN, K.A., NSEREKO, V.L., RODE, L.M., MCALLISTER, T.A., IWAASA, A.D., WANG, Y., YANG, W.Z., 2001: Resistance of feed enzymes to proteolytic inactivation by rumen microorganisms and gastrointestinal proteases. J. Anim. Sci. 79, 1621-1630
- MORGAVI, D.P., NEWBOLD, C.J., BEEVER, D.E., WALLACE, R.J., 2000a: Stability and stabilization of potential feed additive enzymes in rumen fluid. Enzyme and Microbial Technol. 26, 171-177
- NAUMANN, C. und BASSLER, R., 1976: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch Band III, VDLUFA-Verlag, Darmstadt.
- NEIL, A.R., GRIME, D.W., SNOSWELL, A.M., 1979: The low availability of dietary choline for the nutrition of the sheep. Biochem. J. 180, 559-565
- NEWBOLD, C.J., 1997: Proposed mechanisms for enzymes as modifiers of ruminal fermentation. Proceedings of the 8th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium (C.R., Staple Hrsg.), University of Florida, USA, pp. 146-159
- NEWBOLD, C.J., WILLIAMS, A.G., CHAMBERLAIN, D.G., 1987: The in vitro metabolism of DL-lactid acid by rumen microorganisms. J. Sci. Food Agric. 38, 9-18
- NRC (National Research Council), 2001: Nutrient requirements of dairy cattle; seventh revised edition. National Academy Press, Washington, D.C.
- NRC, 1989: In Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th Edition, Nat. Acad. Press, Washington, DC., p. 9
- NSEREKO, V.L., BEAUCHEMIN, K.A., MORGAVI, D.P., RODE, L.M., FURTADO, A.F., MCALLISTER, T.A., IWAASA, A.D., YANG W.Z., WANG Y., 2002: Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows. Can. J. Microbiol. 48, 14-20
- NSEREKO, V.L., MORGAVI, D.P., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., MCALLISTER, T.A., 2000: Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms in vitro. Anim. Feed Sci. Techn. 88, 153-170

- NUSSIO, L.G., HUBER, J.T., THEURER, C.B., NUSSIO, C.B., SANTOS, J., TARAZON, M., LIMA-FILHO, R.O., RIGGS, B., LAMOREAUX, M., REACHER, R.J., 1997: Influence of a cellulase/ xylanase complex (C/X) on lactational performance of dairy cows fed alfalfa hay (AH) based diets. *J. Dairy Sci.* 80, Suppl. 1, p. 220
- OELLERMANN, S.O., ARAMBEL, M.J., KENT, B.A., WALTERS, J.L., 1990: Effect of graded amounts of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. *J. Dairy Sci.* 73: 2413-2416
- ORPIN, C.G., 1979: Chemotaxis in rumen ciliate protozoa. *Society of General Microbiology Quaterly.* 7, p. 32
- ORPIN, C.G., 1984: The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. *Anim. Feed Sci. Technol.* 10, 121-143
- ORPIN, C.G. und JOBLIN, K.N., 1997: The rumen anaerobic fungi. In *The Rumen Microbial Ecosystem* (P.N., Hobson und C.S. Stewart Hrsg.). Second Edition, Chapman & Hall, London, pp. 140-184
- ØRSKOV, E.R. und McDONALD, J., 1979: The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 92, 499-503
- OVERTON, T.R., CAMERON, M.R., ELLIOTT, J.P., CLARK, J.H., NELSON, D.R., 1995: Ruminal fermentation and passage of nutrients to the duodenum of lactating cows fed mixtures of corn and barley. *J. Dairy Sci.* 78, 1981-1998
- PAUL, S.S., KAMRA, D.N., SASTRY, V.R.B., SAHU, N.P., AGARWAL, N., 2004: Effect of administration of an anaerobic gut fungus isolated from wild blue bull (*Boselaphus tragocamelus*) to buffaloes (*Bubalis bubalis*) on in vivo ruminal fermentation and digestion of nutrients. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115, 143-157
- PENDLETON, B., 2000: The regulary environment. In *Direct Fed Microbial, Enzyme and Forage Additive Compendium* (S., Muirhea Hrsg.). The Miller Publishing Co., Minnetonka, MN, p. 49
- PERRY, T.W., COPE, D.D., BEESON, W.M., 1960: Low vs high moisture shelled corn with and without enzymes and stilbestrol for fattening steers. *J. Anim. Sci.* 19, p. 1284
- PERRY, T.W., PURKHISER, E.D., BEESON, W.M., 1966: Effects of supplemental enzyme on nitrogen balance, digestibility of energy and nutrients and on growth and feed efficiency of cattle. *J. Anim. Sci.* 25, 760-764
- PETRE, D., MILLET, J., LONGUIN, R., BÉGUIN, P., GIRARD, H., AUBERT, J.-P., 1986: Purification and properties of the endoglucanase C of *Clostridium thermocellum* produced in *Escherichia coli*. *Biochimie* 68, 687-695

- PHIPPS, R.H., SUTTON, J.D., BEEVER, D.E., BHAT, M.K., HARTNELL, G.F., VICINI, J., HARD, D.L., 2000b: Effect of cell-wall degrading enzymes and method of application on feed intake and milk production of Holstein-Friesian dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83, Suppl. 1, p.23
- PHIPPS, R.H., SUTTON, J.D., BEEVER, D.E., BHAT, M.K., HARTNELL, G.F., VICINI, J., HARD, D.L., 2000a: Evaluation of feed additives in the diet of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, Suppl. 1, p. 23
- PINOS-RODRIGUEZ, J.M., GONZALES, S.S., MENDOZA, G.D., BÁRCENA, R., COBOS, M.A., HERNÁNDEZ, A., ORTEGA, M.E., 2002: Effect of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay fed to lambs. *J. Anim. Sci.* 80: 3016-3020
- POND, K.R., ELLIS, W.C., AKIN, D.E., 1984: Ingestive mastication and fragmentation of forages. *J. Anim. Sci.* 58, 1567-1574
- PRINS, R.A., VAN RHEENEN, D.L., VAN`T KLOOSTER, A.T., 1983: Characterisation of microbial proteolytic enzymes in the rumen. *Ant. Van Leeuw.* 49, 585-595
- PRITCHARD, G., HUNT, C., ALLEN, A. TREACHER, R., 1996: Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on digestion and growth performance in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 74, Suppl. 1, p. 296
- RANILLA, M.J., TEJIDO, M.L., GIRALDO, L.A., TRICÁRICO, J.M., CARRO, M.D., 2007: Effects of an exogenous fibrolytic enzyme preparation on in vitro ruminal fermentation of three forages and their isolated cell walls. *Anim. Sci. Feed Techn.*, in press
- REYNOLDS, C.K., 2003: Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from the late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.* 84, 741-755
- RODE, L.M., MCALLISTER, T.A., BEAUCHEMIN, K.A., MORGAVI, D.P., NSEREKO, V.L., YANG, W.Z., IWAASA, A.D., WANG, Y., 2001: Enzymes as direct-feed additives for ruminants. In *Biotechnology in Animal Husbandry* (R., Renaville und A., Burny Hrsg.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/ Boston/ London, pp. 301-332
- RODE, L.M., YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A., 1999: Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 82, 2121-2126
- ROJO, R., MENDOZA, G.D., GONZÁLEZ, S.S., LANDOIS, L., BÁRCENA, R., CROSBY, M.M., 2005: Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. *Anim. Feed. Sci. and Techn.* 123-124: 655-665
- ROVICS, J.J. und ELY, C.M., 1962: Response of beef cattle to enzyme supplement. *J. Anim. Sci.* 21, 1012

- RUSSEL, J.B. und DOMBROWSKI, D.B., 1980: Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continous culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 39, 606-610
- RUST, J.W., JACOBSEN, N.L., MCGILLIARD, A.D., HOTCHKISS, D.K., 1965: Supplementation of dairy calf diets with enzymes. II. Effect on nutrient utilization and on composition of rumen fluid. *J. Anim. Sci.* 24, 156-160
- SANCHEZ, W.K., HUNT, C.W., GUY, M.A., PRITCHARD, G.T., SWANSON, B.I., WARNER, T.B., HIGGINS, J.M., TREACHER, R.J., 1996: Effect of fibrolytic enzymes on lactation performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79, Suppl. 1, p. 183
- SAS Institute Inc., 1988: SAS/STAT User`s Guide Release 6.03 Edition, SAS Circle Box 8000, Cary NC, 27512-8000
- SATTLER, L.D. und ROFFLER, R.E., 1975: Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 58, 1219-1237
- SCHINGOETHE, D.J., STEGEMAN, G.A., TREACHER, R.J., 1999: Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase mixture applied to forages at the time of feeding. *J. Dairy Sci.* 82, 996-1003
- SCHWARZ, F.J., EISENREICH, R., STEINBERG, W., 2006: Einfluss von NSP-Enzymen auf die Verdaulichkeit und Leistung von Mastrindern. In 118. VDLUFA-Kongress, Freiburg, 19.-22.09.2006 (VDLUFA Hrsg.), VDLUFA-Verlag, Speyer, p. 105
- SELINGER, L.B., FORSBERG, C.W., CHENG, K.-J., 1996: The rumen: a unique source of enzymes for enhancing livestock production. *Anaerobe* 2, 263-284
- SLYTER, L.L., SATTER, L.D., DINIUS, D.A., 1979: Effect of ruminal ammonia concentration on nitrogen utilization by steers. *J. Anim. Sci.* 48, 906-912
- STEWART, C.S., FLINT, H.J., BRYANT, M.P., 1997: The rumen bacteria. In *The Rumen Microbial Ecosystem* (P.N., Hobson und C.S. Stewart Hrsg.). Second Edition, Chapman & Hall, London, pp. 10-55
- STOKES, S., 1997: Balancing carbohydrates for optimal rumen function and animal health. In *Proceedings of the Western Canadian Dairy Seminar* (J., Kennelly Hrsg.), pp. 73-86
- SUTTON, D.J., PHIPPS, R.H., BEEVER, D.E., HUMPHRIES, D.J., HARTNELL, G.F., VICINI, J.L., 2001: Comparison of different methods of administration on the effect of fibrolytic enzymes on digestive processes in lactation cows. *J. Dairy. Sci.* 84, Suppl. 1, p. 37
- SUTTON, J.D., PHIPPS, R.H., BEEVER, D.E., HUMPHRIES, D.J., HARTNELL, G.F., VICINI, J.L., HARD, D.L., 2003: Effect of method of application of a fibrolytic enzyme product on digestive processes and milk production in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 86: 546-556

TATAJ, M., JUNCK, B., MAULBETSCH, A., STEINGASS, H., PIEPHO, H.-P., DROCHNER, W., 2004: Digesta characteristics of dorsal, middle and ventral rumen of cows fed with different hay qualities and concentrates levels. *Arch. Anim. Nutr.* 58, 352-342

TEERI, T.T., 1997: Crystalline cellulose degradation: new insight into function of CBHs. *Trends in Biotechnology* 15, 160-167

THEURER, B., WOODS, W., BURROUGHS, W., 1963: Influence of enzyme supplements in lamb fattening rations. *J. Anim. Sci.* 22, 150-154

THURN, K.K. und KOTARSKI, S.F., 1987: Subcellular of starch-degrading enzymes in *Bacteroides rumenicola*. In 19th Biennial Conference on Rumen Function, Chicago, IL, USA, p. 30

TRICARICO, J.M., JOHNSTON, J.G., DAWSON, K.A., 2007: Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. *Anim. Feed Sci. Techn.*, article in press

VAN SOEST, P.J., 1982: *Nutritional Ecology of the Ruminant*. O & B Books Inc., Corvallis, USA, p. 252

VAN WALLEGHEM, P.A., AMMERMAN, C.B., CHICCO, C.F., MOORE, J.E., ARRINGTON, L.R., 1964: Enzyme supplements and digestibility of protein and energy in rations high in dried citrus pulp. *J. Anim. Sci.* 23, 960-962

VAREL, V.H. und KREIKEMEIER, K.K., 1994: Influence of feeding *Aspergillus oryzae* fermentation extract (Amaferm) on in situ fiber degradation, ruminal fermentation, and microbial protein synthesis in nonlactating cows fed alfalfa or bromegrass hay. *J. Anim. Sci.* 72: 1814-1822

VDLUFA, 2004: *Methodenbuch Band III, Vorschrift 4.1.2*, VDLUFA-Verlag, Bonn

WALKER, G.J., 1965: The cell-bound alpha-amylases of *Streptococcus bovia*. *Biochem. J.* 84. 289-298

WALLACE, R.J., ONODERA, R., COTTA, M.A., 1997: Metabolism of nitrogen-containing compounds. In *The Rumen Microbial Ecosystem* (P.N., Hobson und C.S., Stewart Hrsg.). Second Edition, Chapman & Hall, London, pp. 283-328

WALLACE, R.J., WALLACE, S.J., MCKAIN, N., NSEREKO, V.L., HARNELL, G.F., 2001: Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass silages by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Anim. Sci.* 79: 1905-1916

WANG, Y., McALLISTER, T., RODE, L., BEAUCHEMIN, K., MORGAVI, D., NSEREKO, V., IWAASA, A., YANG, W., 2002: Effects of exogenous fibrolytic enzymes on epiphytic microbial populations and in vitro digestion of silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 760-768

- WANG, Y., McALLISTER, T.A., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., MORGAVI, D.P., NSEREKO, V.L., IWAASA, A.D., YANG, D., 2001: Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the rumen simulation technique (Rusitec). *Br. J. Nutr.* 85: 325-332
- WANG, Y., McALLISTER, T.A., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., MORGAVI, D.P., NSEREKO, V.L., IWAASA, A.D., YANG, W., 2002: Effect of exogenous fibrolytic enzymes on epiphytic microbial populations and in vitro silage digestion. *J. Sci. Food Agric.* 82, 760-768
- WILLIAMS, A.G. und COLEMAN, G.S., 1997: The rumen protozoa. In *The Rumen Microbial Ecosystem* (P.N., Hobson und C.S. Stewart Hrsg.). Second Edition, Chapman & Hall, London, pp. 73-120
- WILLIAMS, A.G. und WITHERS, S.E., 1991: Effect of ciliate protozoa on the activity of polysaccharide-degrading enzymes and fiber breakdown in the rumen ecosystem. *J. Appl. Bacteriol.* 70, 144-155
- WILLIAMS, A.G., STRACHAN, N.H., ELLIS, A.B., 1988: Factors affecting the xylanolytic enzyme activity of microbial populations recovered from the liquid and solid phases of the rumen ecosystem. In *Perspectives in Microbial Ecology* (F., Megusar und M., Gantas Hrsg.). Slovene Society for Microbiology, Ljubljana, pp. 597-602
- WINDHAM, W.R. und AKIN, D.E., 1984: Rumen fungi and forage fiber degradation. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 473-476
- WING, J.M., VAN HORN, H.H., SKLARE, S.D., HARRIS, B.Jr., 1988: Effects of citrus molasses on rumen parameters and lactation. *J. Dairy Sci.* 71, 414-420
- WOOD, T.M. und BHAT, K.M., 1988: Methods for measuring cellulase activities. In *Methods in Enzymology*, Vol. 160 (W.A., Wood und S.T., Kolog Hrsg.). Academic Press, London, pp. 87-112
- WOOD, T.M., 1992: Fungal cellulases. *Biochem. Soc. Trans.* 20, 46-53
- WOOD, T.M., MCCRAE, S.I., WILSON, C., BHAT, K.M., GOW, L., 1988: Aerobic and anaerobic fungal cellulases with special reference to their mode of attack on crystalline cellulose. In *Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation* (J.-P., Aubert, P., Béguin, J., Miller Hrsg.). FEMS Symposium No. 43, Academic Press, London, pp. 31-52
- YANG, W.Z., BEAUCHEMIN K.A., VEDRES, D.D., 2002: Effects of pH and fibrolytic enzymes on digestibility, bacterial protein synthesis, and fermentation in continuous culture. *Anim. Feed Sci. Techn.* 102, 137-150
- YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., 1998: Effects of fibrolytic enzyme additives on milk production of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 76, Suppl. 1, 320. Suppl., 320

YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., 1999: Effects of enzyme feed additives on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 391-403

YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A., RODE, L.M., 2000: A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. *J. Dairy Sci.* 83: 2512-2520

YANKE, L.J., SELINGER, L.B., CHENG, K.-J., 1995: Comparison of cellulolytic and xylanolytic activities of anaerobic rumen fungi. *Proceedings of the 23rd Biennial Conference on rumen Function, Chicago*, p. 32

YODER, R.D., TRENKLE, A., BURROUGHS, W., 1966: Influence of rumen protozoa and bacteria upon cellulose digestion in vitro. *J. Anim. Sci.* 25, 609-612

ZEBELI, Q., 2005: Einfluss der Partikellänge von Totalmischrationen (TMR) auf die Digestaschichtung und Verdauungsvorgänge im Pansen hochleistender Milchkühe. *Dissertation, Universität Hohenheim*

ZEITZ, J., 2007: Einfluss einer Enzymzulage (Roxazyme® G2 Liquid) auf die Bakterienpopulation im Pansen nichtlaktierender Kühe, *Diplomarbeit, Technische Universität München*

ZHENG, W., SCHINGOETHE, D.J., STEGEMAN, G.A., HIPPEN, A.R., TREACHER, R.J., 2000: Determination of when during the lactation cycle to start feeding a cellulase and xylanase mixture to dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 2319-2325

9 Tabellenanhang

T-Verlust

A 1: T-Verluste (%) von Maissilage aus Versuch V1-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A und C), Konzentrationsstufe (1-3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
		0	2	4	8	16	24	48	72
K	1	50,6	46,4	48,7	50,2	63,1	68,1	78,6	83,3
	2	49,3	46,3	47,9	52,2	64,5	72,6	79,5	82,3
	3	50,4	47,3	48,5	50,3	57,9	67,8	76,8	75,2
	4	-	46,7	50,0	54,7	67,9	72,4	80,2	83,8
	5	-	46,7	49,4	52,1	62,3	71,2	79,3	82,0
	6	-	45,8	50,2	54,6	60,2	73,0	80,2	82,0
A1	1	50,3	45,6	47,9	51,4	63,6	69,3	79,6	82,3
	2	51,1	46,6	48,1	54,5	64,2	72,4	79,1	82,4
	3	50,8	47,5	48,7	50,6	60,7	66,5	73,1	76,0
	4	-	46,9	50,1	51,8	68,1	71,9	80,3	84,1
	5	-	46,5	51,5	52,0	63,4	70,7	79,8	81,8
	6	-	45,8	48,7	56,2	63,3	71,1	80,3	82,0
A2	1	49,9	46,5	48,3	52,3	65,3	69,2	79,0	82,4
	2	49,9	46,5	49,2	57,5	64,9	71,8	78,4	82,0
	3	50,2	47,5	48,0	50,3	61,3	63,3	74,6	76,5
	4	-	47,2	49,3	50,9	67,9	69,6	79,6	83,5
	5	-	45,9	50,1	51,3	62,1	70,8	78,9	81,4
	6	-	46,4	49,7	56,2	58,4	71,0	80,1	80,9
A3	1	50,6	47,6	49,6	52,2	64,7	71,1	80,0	83,2
	2	50,5	46,7	49,1	54,5	65,9	73,2	79,0	81,8
	3	50,8	47,3	48,7	49,7	63,7	60,4	79,6	75,1
	4	-	47,1	49,8	51,7	67,8	69,5	80,1	83,5
	5	-	47,3	49,9	51,5	61,4	71,8	79,1	81,7
	6	-	46,1	49,2	58,5	59,1	72,0	80,0	81,7
C1	1	51,7	49,2	49,9	54,9	62,9	72,8	80,5	83,4
	2	51,6	47,6	50,0	55,0	66,0	74,1	79,3	82,6
	3	51,7	49,0	50,1	51,9	64,3	64,4	75,3	80,5
	4	-	48,1	51,1	54,2	65,7	69,4	80,2	84,1
	5	-	48,9	50,1	52,8	62,2	68,2	79,8	82,3
	6	-	47,1	50,3	56,2	66,9	73,3	80,0	83,0
C2	1	50,7	48,5	49,6	55,2	63,7	72,3	80,0	83,0
	2	51,4	47,0	49,4	55,6	66,5	72,4	79,4	82,6
	3	51,3	49,7	51,1	54,2	55,3	66,8	74,9	75,4
	4	-	48,8	50,6	52,7	65,4	70,5	80,2	83,8
	5	-	48,2	50,3	54,6	62,2	68,8	79,2	81,9
	6	-	46,9	50,9	55,8	64,7	73,0	79,7	82,8
C3	1	51,7	49,5	50,6	54,4	62,6	73,1	80,3	82,8
	2	52,1	49,1	49,9	55,0	62,8	71,4	79,4	82,4
	3	52,0	50,4	51,2	56,8	60,1	62,5	76,4	77,3
	4	-	49,4	52,1	54,5	68,2	70,6	80,4	83,7
	5	-	49,4	51,9	54,2	63,2	69,2	79,7	82,2
	6	-	48,4	52,2	56,7	63,0	72,9	80,2	82,6

A 2: T-Verluste (%) von Maissilage aus Versuch V1-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (R), Konzentrationsstufe (1-3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
		0	2	4	8	16	24	48	72
R1	1	50,4	48,1	49,7	52,2	67,4	71,4	79,9	82,6
	2	50,2	46,5	50,4	55,4	67,1	71,9	79,2	81,7
	3	50,9	47,9	48,5	48,7	62,6	70,9	70,1	77,8
	4	-	46,8	48,2	51,1	68,2	67,8	79,4	83,5
	5	-	46,4	49,8	52,8	62,7	71,9	79,1	81,8
	6	-	46,5	50,2	57,9	61,4	71,6	80,0	81,7
R2	1	50,6	48,0	49,1	54,3	66,3	72,4	80,5	82,9
	2	50,0	46,2	50,1	52,7	66,4	73,9	78,7	81,6
	3	50,8	48,8	48,6	51,1	63,6	64,0	76,0	80,1
	4	-	46,6	49,6	52,7	66,8	68,9	79,8	83,9
	5	-	47,2	50,2	52,0	65,5	71,4	79,1	81,6
	6	-	47,5	50,8	59,0	67,3	71,1	78,8	82,3
R3	1	51,7	49,9	50,9	56,0	64,9	70,2	80,8	83,2
	2	52,2	47,6	50,9	58,3	66,8	73,5	79,6	82,2
	3	52,9	49,6	50,5	53,0	63,8	62,5	73,7	80,6
	4	-	48,7	51,9	54,2	67,8	68,3	80,3	83,9
	5	-	49,4	50,6	55,2	63,5	68,9	79,5	81,9
	6	-	48,7	52,4	57,5	68,4	72,5	79,3	82,3

A 3: T-Verluste (%) der Kraftfuttermittel aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A2, C2 und R3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
			0	2	4	8	16	24	48	72
Gerste	K	1	24,4	63,1	69,0	79,9	87,6	87,5	90,0	91,3
		2	21,5	58,2	76,2	84,9	88,6	89,7	90,6	92,2
		3	-	55,1	66,7	75,0	84,4	90,9	91,3	92,7
	A2	1	24,4	60,3	76,7	81,5	88,4	89,5	91,6	92,1
		2	21,5	64,8	73,3	80,1	88,5	89,2	90,2	92,4
		3	-	69,6	75,4	82,8	85,1	89,5	91,6	92,1
	C2	1	24,4	65,9	78,7	86,3	89,3	90,3	92,4	91,8
		2	21,5	67,5	72,9	85,2	89,4	90,9	91,7	92,2
		3	-	62,3	68,2	81,8	86,6	88,5	90,5	91,6
	R3	1	24,4	66,3	80,5	81,8	89,2	88,7	91,4	91,3
		2	21,5	70,9	76,5	83,5	87,2	90,1	91,2	92,3
		3	-	69,3	75,2	82,2	89,1	89,9	91,8	91,8
Biertreber	K	1	34,9	34,9	42,3	48,5	63,0	54,0	71,0	75,1
		2	30,4	34,6	40,1	50,3	60,5	66,3	72,3	76,1
		3	-	33,0	37,0	52,1	58,2	67,9	73,3	76,1
	A2	1	34,9	31,8	36,3	44,5	57,7	64,6	71,9	75,5
		2	30,4	35,9	38,7	42,2	41,4	63,8	71,0	73,3
		3	-	33,2	42,8	53,7	59,1	68,3	73,7	76,4
	C2	1	34,9	39,9	44,7	51,0	60,3	64,5	70,2	76,1
		2	30,4	38,2	41,0	48,6	63,0	67,9	72,3	76,5
		3	-	34,3	36,9	38,9	49,7	61,3	68,3	73,2
	R3	1	34,9	48,3	47,6	54,5	62,9	62,0	73,0	77,1
		2	30,4	42,3	46,4	52,9	60,5	66,9	73,0	78,5
		3	-	42,5	49,0	54,3	60,0	66,1	73,4	76,6
Körnermais	K	1	15,6	26,1	27,6	33,2	46,7	52,0	92,2	96,1
		2	20,4	25,2	32,8	35,6	55,7	72,0	84,0	98,0
		3	-	24,3	25,0	29,2	38,3	62,9	91,9	98,3
	A2	1	15,6	32,9	36,4	46,4	52,6	57,5	93,4	97,9
		2	20,4	33,6	35,8	41,3	52,7	61,9	83,3	96,7
		3	-	35,1	35,5	42,8	52,9	65,2	93,4	98,8
	C2	1	15,6	27,9	28,7	39,7	56,6	70,1	92,9	98,2
		2	20,4	26,8	29,8	41,2	42,9	56,5	89,2	98,5
		3	-	27,0	27,7	33,0	46,9	53,4	74,9	96,5
	R3	1	15,6	25,6	29,8	34,4	55,5	50,9	87,4	97,8
		2	20,4	29,1	32,6	40,9	45,4	66,3	89,3	97,9
		3	-	27,3	30,2	37,2	48,1	63,3	85,8	98,5
Trockenschnitzel	K	1	28,8	33,3	37,9	47,8	81,9	74,6	95,8	96,0
		2	31,3	34,0	41,6	64,5	92,5	95,6	96,2	96,5
		3	-	31,6	38,5	47,4	71,8	92,8	95,8	96,2
	A2	1	28,8	33,2	37,5	51,7	75,1	88,4	96,1	96,4
		2	31,3	34,2	39,9	52,8	75,8	88,8	94,5	95,3
		3	-	34,4	42,8	54,8	77,5	93,2	96,1	96,0
	C2	1	28,8	33,7	41,0	58,9	87,3	95,9	96,2	96,4
		2	31,3	35,1	43,2	61,7	85,9	89,0	95,9	96,0
		3	-	33,7	36,3	41,9	75,0	88,3	93,0	95,9
	R3	1	28,8	32,2	42,1	57,1	92,2	81,6	97,3	96,1
		2	31,3	34,5	40,4	51,9	63,5	94,5	95,9	95,1
		3	-	34,4	39,0	52,5	82,8	94,1	96,2	95,6

A 4: T-Verluste (%) der Grundfuttermittel und der TMR aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A2, C2 und R3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
			0	2	4	8	16	24	48	72
Maissilage	K	1	51,5	48,8	48,9	56,5	63,9	68,2	77,6	80,7
		2	52,3	47,1	49,2	52,1	65,0	67,9	75,4	80,8
		3	-	51,9	52,9	54,3	61,2	69,9	78,8	82,6
	A2	1	51,5	48,9	52,9	55,1	66,4	66,7	81,8	83,6
		2	52,3	51,5	52,7	55,5	58,2	70,5	78,9	80,0
		3	-	52,2	50,5	53,7	57,4	66,2	79,5	81,2
	C2	1	51,5	52,4	52,9	55,9	61,3	68,1	77,6	81,3
		2	52,3	50,3	49,7	59,8	63,0	68,1	78,9	83,0
		3	-	51,2	53,8	51,6	58,3	65,1	78,1	80,9
	R3	1	51,5	51,7	47,8	66,7	68,3	68,6	77,2	81,5
		2	52,3	53,5	53,2	58,7	68,2	74,7	79,3	83,1
		3	-	54,0	56,3	55,4	67,8	74,0	81,1	84,5
Grassilage	K	1	47,4	45,5	49,5	56,9	69,7	76,9	86,4	86,9
		2	44,6	44,7	49,2	56,7	70,8	79,0	84,1	86,7
		3	-	47,6	52,7	55,1	70,6	81,1	87,6	88,0
	A2	1	47,4	46,0	51,0	55,3	72,4	77,0	84,7	87,2
		2	44,6	46,8	49,8	62,1	71,1	80,0	86,6	86,4
		3	-	47,8	52,0	62,8	67,7	80,8	86,7	87,9
	C2	1	47,4	48,6	54,1	53,4	74,3	81,0	84,7	87,2
		2	44,6	49,1	53,9	60,1	73,4	81,8	83,4	88,6
		3	-	44,4	47,1	61,0	72,2	75,1	83,7	86,4
	R3	1	47,4	49,9	53,0	67,4	76,7	72,7	86,9	89,4
		2	44,6	47,7	52,0	57,4	73,1	81,7	85,1	87,2
		3	-	47,4	51,1	63,8	72,0	81,4	86,2	87,7
Heu	K	1	20,9	23,9	28,2	37,6	51,2	67,3	75,9	79,8
		2	21,9	25,2	29,9	39,3	59,9	71,0	75,1	81,3
		3	-	23,5	26,0	30,0	49,1	66,8	75,0	80,5
	A2	1	20,9	22,2	25,1	34,9	53,7	58,5	76,1	81,0
		2	21,9	25,2	27,7	36,9	51,8	65,3	75,2	77,5
		3	-	25,1	29,5	38,0	61,1	66,7	77,4	80,6
	C2	1	20,9	25,2	29,1	42,2	61,2	69,9	78,0	81,5
		2	21,9	25,7	27,7	41,2	49,8	66,8	77,0	81,7
		3	-	22,7	24,3	33,4	49,8	56,8	71,0	77,8
	R3	1	20,9	24,9	28,1	45,6	53,9	63,3	74,4	79,9
		2	21,9	26,8	28,2	37,7	56,0	69,5	76,2	79,3
		3	-	27,4	30,1	38,4	58,8	71,1	77,4	82,2
TMR	K	1	47,3	55,2	56,9	61,8	72,8	65,8	86,1	87,9
		2	55,3	54,8	57,0	65,0	73,8	78,0	86,7	90,0
		3	-	47,9	49,7	56,4	71,3	78,3	88,3	89,2
	A2	1	47,3	56,9	58,7	61,2	72,0	77,1	88,3	90,0
		2	55,3	52,7	55,4	55,7	61,4	75,2	79,8	88,5
		3	-	54,0	54,7	58,3	64,8	77,7	85,3	87,7
	C2	1	47,3	52,5	55,7	63,6	69,4	79,6	86,5	88,8
		2	55,3	52,2	54,4	62,2	72,1	81,5	86,6	89,2
		3	-	56,9	58,1	59,5	62,0	68,9	82,7	87,6
	R3	1	47,3	50,5	52,6	59,5	71,6	70,0	87,1	88,8
		2	55,3	53,9	54,7	60,2	67,8	74,5	87,3	88,3
		3	-	53,3	57,4	65,3	68,9	80,4	88,0	89,8

A 5: T-Verluste (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
			0	2	4	8	16	24	48	72
Gerste	K	6	23,1	63,7	69,9	82,4	87,5	89,6	91,2	92,3
		5	-	59,2	73,9	74,9	88,7	89,7	91,6	92,3
		3	22,2	61,5	74,6	82,8	88,1	88,6	91,0	92,2
		4	-	63,8	73,1	83,5	87,2	88,9	90,9	91,1
		1	21,2	67,0	76,2	83,1	88,7	89,2	91,2	92,0
		2	-	62,0	74,3	84,3	86,6	89,6	91,5	91,8
	R2	4	23,1	59,8	70,6	81,1	86,0	89,0	90,2	90,1
		3	-	61,6	70,8	84,8	88,5	88,6	90,9	91,5
		1	22,2	71,1	79,9	85,7	87,7	88,6	91,5	91,7
		2	-	67,1	77,7	85,1	85,8	88,1	90,7	91,4
		5	21,2	64,9	75,3	84,4	88,5	89,6	91,0	91,5
		6	-	64,9	80,0	83,9	88,8	90,4	90,9	92,4
	R3	2	23,1	71,9	79,3	85,0	87,6	88,3	91,0	91,4
		1	-	71,6	79,2	83,6	86,4	89,3	90,9	91,4
		5	22,2	70,4	77,5	86,0	88,6	90,3	91,5	92,2
		6	-	74,2	78,1	85,8	87,6	89,0	91,6	92,2
		3	21,2	67,3	78,1	84,6	87,4	89,7	91,1	91,6
		4	-	63,9	75,7	81,4	87,0	87,7	89,9	91,1
Biertreber	K	6	17,2	24,9	26,4	42,1	52,3	61,1	72,1	74,4
		5	-	21,0	23,4	44,9	48,2	58,7	70,4	73,5
		3	15,6	23,7	25,2	43,5	55,9	53,7	67,9	74,9
		4	-	23,2	26,0	30,8	49,5	49,7	66,4	72,2
		1	15,5	23,3	28,0	46,0	49,7	58,7	70,9	73,3
		2	-	20,6	27,0	38,1	52,7	62,5	67,5	73,8
	R2	4	17,2	26,9	26,6	45,4	54,3	59,0	70,1	72,6
		3	-	29,1	30,6	43,0	58,5	62,2	71,1	74,5
		1	15,6	27,1	32,5	47,5	53,2	60,8	70,5	73,5
		2	-	25,7	31,0	46,1	53,3	56,9	70,7	74,6
		5	15,5	24,6	29,1	41,6	54,5	60,7	69,4	73,6
		6	-	24,9	32,8	43,1	56,8	61,0	69,3	73,2
	R3	2	17,2	33,1	33,0	38,6	54,4	63,9	70,0	74,2
		1	-	34,0	33,4	51,7	58,8	63,5	69,7	75,1
		5	15,6	30,0	34,1	48,0	56,4	56,0	69,8	72,2
		6	-	28,7	33,0	45,6	55,6	61,2	70,1	72,2
		3	15,5	29,2	34,1	40,7	54,6	59,3	68,5	72,7
		4	-	26,9	31,0	43,6	48,4	56,3	66,0	70,5
Getreideschlempe	K	6	44,7	51,6	55,2	63,6	66,7	71,7	86,1	89,2
		5	-	54,7	54,9	62,6	67,9	72,2	87,6	89,5
		3	43,6	53,0	55,9	60,9	68,8	71,2	83,4	89,9
		4	-	52,9	57,5	59,6	67,0	69,8	82,3	88,7
		1	44,8	53,5	55,5	64,1	69,0	74,6	85,5	89,2
		2	-	52,8	55,9	60,6	68,6	76,8	86,6	89,9
	R2	4	44,7	57,8	55,5	63,2	69,7	65,1	83,3	83,5
		3	-	53,5	59,9	65,5	70,0	71,3	85,9	88,4
		1	43,6	56,4	59,2	65,8	68,3	72,7	85,0	88,7
		2	-	55,3	58,3	64,4	68,8	70,9	85,8	89,6
		5	44,8	55,5	58,3	63,6	68,9	75,6	85,4	89,3
		6	-	56,3	59,9	63,8	70,2	74,0	85,2	89,2
	R3	2	44,7	56,3	61,9	65,2	67,9	77,1	85,7	89,4
		1	-	56,4	60,1	67,2	68,7	74,0	84,9	90,2
		5	43,6	57,8	61,3	63,2	69,7	77,0	86,6	90,2
		6	-	56,4	60,7	66,0	69,1	73,5	85,0	88,7
		3	44,8	57,7	60,5	65,5	68,5	74,0	85,4	89,5
		4	-	55,2	58,1	64,5	66,9	71,2	79,9	88,3

A 6: T-Verluste (%) von Raps-/ Sonnenblumenextraktionsschrot und Maissilage aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
			0	2	4	8	16	24	48	72
Rapsextr.schrot	K	6	21,0	31,8	36,6	61,4	77,1	82,2	82,7	82,4
		5	-	31,4	35,4	61,6	81,2	82,3	82,8	81,8
		3	18,6	30,3	33,6	52,1	77,4	81,1	82,0	81,5
		4	-	29,3	34,7	52,9	61,0	79,3	82,9	81,8
		1	20,2	30,4	35,3	55,4	79,0	81,1	81,8	81,3
		2	-	30,5	38,5	66,7	78,7	80,9	82,1	81,2
	R2	4	21,0	30,9	35,3	60,2	79,3	81,7	82,9	81,6
		3	-	31,2	37,4	55,6	79,2	81,8	82,6	81,1
		1	18,6	30,6	37,4	69,2	73,8	80,9	82,3	81,1
		2	-	29,8	34,6	65,5	73,7	81,0	80,6	80,7
		5	20,2	31,0	35,2	62,4	84,2	81,8	82,6	81,9
		6	-	31,4	39,3	61,7	81,1	81,9	82,0	82,3
	R3	2	21,0	32,3	38,2	69,4	81,9	82,3	81,6	81,2
		1	-	32,0	37,7	58,0	80,6	81,7	82,3	80,4
		5	18,6	30,2	34,8	54,0	78,3	81,4	82,0	80,9
		6	-	31,6	36,6	58,8	80,7	81,5	82,0	80,5
		3	20,2	31,7	37,4	57,1	78,0	81,7	82,2	82,5
		4	-	29,6	37,2	53,2	79,3	81,6	82,5	82,4
Sonnenblumen- extr.schrot	K	6	22,0	40,9	45,6	66,9	74,5	77,3	78,7	77,4
		5	-	36,7	46,4	67,0	76,2	77,6	78,3	78,6
		3	21,8	39,6	44,7	61,5	75,9	78,4	78,9	79,7
		4	-	38,2	44,7	63,1	69,7	76,4	78,6	77,9
		1	21,9	38,8	46,3	69,9	75,7	76,5	79,2	78,5
		2	-	37,7	47,8	68,0	72,2	76,6	78,0	79,1
	R2	4	22,0	35,5	40,0	61,3	70,4	75,0	78,5	78,4
		3	-	40,0	49,1	62,0	75,9	78,0	78,3	80,0
		1	21,8	40,0	50,4	69,8	72,9	75,7	78,7	77,9
		2	-	38,5	43,6	68,1	73,1	76,1	78,4	79,8
		5	21,9	39,3	45,7	65,3	73,5	76,2	78,1	78,9
		6	-	40,5	47,1	63,9	76,0	78,1	78,5	78,5
	R3	2	22,0	42,1	47,0	73,4	75,9	78,1	79,1	78,5
		1	-	44,1	50,6	64,1	75,7	78,7	79,0	78,6
		5	21,8	41,7	48,8	64,0	76,6	78,4	80,1	78,8
		6	-	43,3	49,5	69,7	76,0	78,1	79,3	79,6
		3	21,9	38,2	46,8	63,9	74,5	76,8	76,9	79,2
		4	-	37,0	44,7	55,8	74,6	76,2	77,5	78,7
Maissilage	K	6	41,8	41,5	40,5	46,6	58,9	60,5	78,4	79,6
		5	-	41,6	43,4	45,2	60,9	64,0	75,0	80,8
		3	42,2	41,0	39,6	51,8	57,1	61,9	77,0	81,0
		4	-	40,5	41,9	43,0	55,7	71,3	74,1	77,6
		1	42,6	41,5	42,4	43,8	57,6	62,4	78,3	81,0
		2	-	41,1	41,1	47,6	54,3	62,7	77,7	80,5
	R2	4	41,8	42,7	42,5	49,4	49,6	58,8	60,8	70,8
		3	-	42,7	42,9	47,8	55,2	66,1	75,3	79,0
		1	42,2	44,7	46,3	51,4	52,6	64,6	78,8	80,3
		2	-	41,9	43,4	49,6	51,5	62,3	76,6	79,5
		5	42,6	42,9	44,4	52,6	62,3	67,4	75,9	79,7
		6	-	43,7	44,5	51,6	57,7	70,3	72,9	81,4
	R3	2	41,8	43,4	45,4	49,8	62,2	63,7	77,6	80,4
		1	-	43,7	43,6	45,0	54,9	68,7	78,0	80,3
		5	42,2	44,2	45,9	50,4	60,9	68,1	77,0	81,2
		6	-	44,9	45,9	48,7	55,4	62,2	77,9	80,5
		3	42,6	44,9	46,0	48,6	59,5	68,4	77,0	78,3
		4	-	44,3	44,9	50,1	52,0	61,8	67,8	74,9

A 7: T-Verluste (%) von Grassilage, Heu und TMR aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
			0	2	4	8	16	24	48	72
Grassilage	K	6	36,5	38,6	39,4	52,0	72,7	73,5	83,6	85,0
		5	-	37,9	38,5	55,5	72,6	77,7	82,4	84,5
		3	34,5	36,0	38,0	57,1	60,9	73,4	81,1	84,8
		4	-	36,9	38,0	43,4	64,1	64,4	80,0	82,9
		1	35,8	35,9	39,5	46,3	72,6	76,9	84,2	85,3
		2	-	36,5	41,9	55,0	69,4	79,4	81,5	84,9
	R2	4	36,5	38,0	40,6	54,3	64,9	70,1	69,3	81,9
		3	-	38,6	40,2	48,8	65,4	77,3	82,7	84,7
		1	34,5	37,3	44,1	53,4	62,9	73,8	83,6	84,8
		2	-	38,3	42,9	51,4	68,8	74,8	82,2	83,5
		5	35,8	37,5	41,1	57,6	73,3	74,9	81,5	83,1
		6	-	37,5	40,9	61,7	65,5	77,6	82,6	85,1
	R3	2	36,5	40,6	48,2	53,8	71,3	77,7	83,6	85,2
		1	-	40,3	43,9	47,2	65,3	78,4	83,7	84,4
		5	34,5	38,3	41,5	54,4	68,0	75,1	81,4	84,4
		6	-	38,5	42,2	58,4	64,8	78,6	84,0	84,1
		3	35,8	38,5	41,5	52,3	73,4	77,4	83,3	84,8
		4	-	38,1	41,8	53,3	62,0	74,2	78,0	80,2
Heu	K	6	20,4	23,4	24,9	34,8	43,9	58,7	73,0	75,0
		5	-	23,7	24,6	29,8	47,2	58,7	72,3	74,2
		3	18,2	22,3	23,6	29,1	48,1	61,2	70,8	75,4
		4	-	21,2	22,5	29,3	39,6	57,1	70,8	72,3
		1	21,2	22,6	24,8	33,2	49,7	62,7	72,9	76,2
		2	-	22,7	24,7	36,0	51,5	64,2	72,7	76,2
	R2	4	20,4	22,4	23,7	30,2	42,1	48,1	65,3	71,7
		3	-	23,9	25,2	30,5	51,1	61,8	69,8	74,6
		1	18,2	21,5	22,3	31,9	42,9	57,7	71,9	75,9
		2	-	20,5	21,6	32,9	39,6	60,9	70,2	74,6
		5	21,2	21,2	23,1	33,4	51,3	59,2	71,9	75,6
		6	-	22,0	23,5	30,4	53,9	64,0	70,9	76,6
	R3	2	20,4	21,6	24,1	35,8	51,2	62,2	71,9	74,9
		1	-	21,9	24,2	27,1	50,9	64,3	71,4	75,7
		5	18,2	19,9	23,3	33,4	51,3	63,0	71,2	74,4
		6	-	21,3	22,4	32,5	49,0	60,2	71,9	74,7
		3	21,2	21,7	23,3	30,6	50,1	59,9	69,9	74,8
		4	-	21,4	23,1	28,3	45,2	51,0	56,3	73,4
TMR	K	6	35,7	44,7	46,3	54,8	67,8	71,8	79,6	82,2
		5	-	42,7	43,6	58,6	68,4	72,9	79,3	83,2
		3	34,5	42,7	45,6	58,0	65,3	67,0	76,7	82,3
		4	-	43,4	45,5	48,8	63,8	62,9	78,2	80,0
		1	35,9	43,2	47,5	56,3	63,5	72,8	80,7	82,7
		2	-	40,8	49,1	54,5	66,6	74,9	77,8	82,8
	R2	4	35,7	43,9	45,1	57,5	67,7	70,2	79,0	81,1
		3	-	41,2	45,3	56,2	67,6	71,7	78,8	82,3
		1	34,5	46,9	50,2	60,7	64,9	72,2	81,3	83,1
		2	-	44,2	48,8	51,7	59,4	69,7	79,1	81,9
		5	35,9	44,6	48,5	55,6	69,3	73,1	80,6	82,2
		6	-	45,0	48,0	61,2	65,6	73,3	77,8	82,8
	R3	2	35,7	41,9	51,3	56,4	66,8	73,9	79,5	82,3
		1	-	43,3	48,0	52,9	64,9	73,4	80,3	81,3
		5	34,5	45,8	49,1	57,6	69,1	63,2	78,9	82,5
		6	-	45,9	47,7	60,7	64,6	73,3	80,8	81,7
		3	35,9	47,6	49,8	54,6	67,6	71,8	79,1	81,7
		4	-	45,7	49,0	59,0	59,5	70,4	73,5	78,2

A 8: T-Verluste (%) der Kraftfuttermittel aus Versuch V3-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, XB3, CT3 und XPH3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
			0	2	4	8	16	24	48	72
Gerste	K	6	21,4	55,9	72,4	82,1	87,6	89,8	90,9	91,8
		5	21,3	64,7	69,5	85,4	88,9	90,1	91,7	92,2
		4	21,4	56,5	66,7	83,9	84,6	87,4	90,7	91,1
	XB3	6	-	65,4	73,0	80,7	86,9	89,7	91,2	92,0
		5	-	70,0	75,7	85,4	88,9	89,2	91,5	91,7
		4	-	64,6	70,0	82,7	84,7	87,2	91,0	91,2
	CT3	6	-	61,5	71,1	82,7	86,7	89,1	90,9	93,0
		5	-	67,8	73,1	84,4	87,7	88,9	91,0	91,3
		4	-	64,7	69,1	84,8	85,7	88,4	90,2	90,8
	XPH3	6	-	61,7	71,1	82,6	87,4	88,9	90,8	91,7
		5	-	64,3	72,4	84,7	88,6	89,4	91,4	91,7
		4	-	57,3	69,0	81,8	85,4	86,2	90,4	90,8
Biertreber	K	6	16,5	23,6	28,8	43,0	54,1	61,9	69,0	72,9
		5	17,1	25,4	28,1	39,8	54,0	61,0	70,4	72,4
		4	16,9	22,4	25,1	38,4	40,3	52,7	66,5	71,0
	XB3	6	-	26,2	32,6	42,5	55,1	67,3	70,2	74,3
		5	-	27,3	32,6	44,0	54,8	58,0	71,2	72,7
		4	-	26,6	28,9	43,3	44,2	51,9	69,4	69,4
	CT3	6	-	25,5	29,9	41,2	53,7	61,5	69,8	76,2
		5	-	26,5	29,9	41,7	53,8	58,2	70,1	71,8
		4	-	24,7	27,1	43,9	45,4	54,5	65,7	71,4
	XPH3	6	-	24,8	29,0	39,7	53,6	61,0	69,4	73,1
		5	-	24,7	28,4	40,0	54,7	59,0	69,4	72,5
		4	-	22,8	25,9	40,9	41,9	50,3	67,0	68,2
Getreideschlempe	K	6	44,5	53,7	56,7	64,4	69,1	73,3	84,7	89,2
		5	44,3	54,6	57,6	63,4	68,3	72,6	84,5	88,4
		4	45,5	53,7	56,1	64,6	64,6	69,6	81,4	86,1
	XB3	6	-	56,3	59,2	64,0	68,8	74,6	84,8	89,2
		5	-	57,9	59,0	64,4	68,6	72,8	86,2	88,9
		4	-	56,2	56,9	63,3	66,1	69,6	82,7	86,2
	CT3	6	-	55,7	57,6	64,4	67,5	73,8	85,8	89,4
		5	-	57,1	58,4	63,7	69,0	74,2	84,2	88,5
		4	-	53,9	56,2	65,4	66,8	71,1	80,5	86,1
	XPH3	6	-	55,2	58,6	64,3	69,1	74,2	84,9	89,2
		5	-	57,0	58,4	64,8	69,2	72,2	85,8	88,5
		4	-	54,9	55,8	63,8	65,6	67,9	82,1	86,9

A 9: T-Verluste (%) der Grundfuttermittel aus Versuch V3-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, XB3, CT3 und XPH3) und Inkubationsdauer (0-72 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)							
			0	2	4	8	16	24	48	72
Maissilage	K	3	43,5	41,8	42,7	51,5	51,1	56,7	76,8	81,0
		2	43,5	43,8	46,0	53,9	61,6	69,8	78,7	81,4
		1	43,6	43,1	43,6	48,3	54,8	70,1	76,9	81,4
	XB3	3	-	42,4	44,0	51,9	52,5	65,0	76,4	80,7
		2	-	44,5	44,9	55,6	62,4	65,1	78,8	81,1
		1	-	43,4	45,6	52,8	59,3	66,6	77,4	81,7
	CT3	3	-	44,5	45,6	52,8	52,5	60,7	77,4	80,7
		2	-	46,0	47,7	54,0	62,7	67,2	78,5	81,7
		1	-	45,3	46,9	54,1	59,4	70,4	77,6	81,6
	XPH3	3	-	42,5	42,7	49,0	52,8	61,2	76,8	80,8
		2	-	42,7	45,0	50,6	62,7	64,5	78,3	81,7
		1	-	42,0	44,1	49,0	59,0	64,7	76,5	81,9
Grassilage	K	3	47,8	49,2	52,2	60,7	68,3	74,8	86,1	88,0
		2	48,0	48,3	50,3	58,4	70,9	79,5	86,2	88,0
		1	48,4	49,4	50,9	59,9	67,5	80,3	84,6	88,5
	XB3	3	-	49,7	52,6	58,6	66,5	75,7	86,0	88,4
		2	-	49,7	51,1	59,3	75,5	79,5	85,6	88,4
		1	-	49,5	51,9	60,9	72,5	81,6	86,2	88,2
	CT3	3	-	50,9	54,0	61,4	65,7	78,0	85,9	88,1
		2	-	50,9	52,2	63,2	73,8	79,3	86,7	88,5
		1	-	50,9	54,4	65,3	73,7	80,5	86,4	88,8
	XPH3	3	-	49,2	50,5	60,3	64,2	76,4	86,1	88,3
		2	-	49,3	50,7	58,7	73,1	75,7	86,7	88,8
		1	-	49,2	52,3	60,1	70,9	77,3	86,3	88,4
Heu	K	3	21,4	23,0	25,2	35,2	44,9	56,0	71,8	76,6
		2	21,5	23,3	24,8	34,1	52,6	60,1	73,1	76,7
		1	21,0	23,0	25,4	33,2	50,0	63,2	71,9	76,7
	XB3	3	-	23,7	26,1	34,9	42,3	58,2	72,1	76,1
		2	-	24,0	25,7	34,6	52,6	60,9	72,5	76,7
		1	-	23,5	26,0	35,9	53,3	63,5	71,7	77,3
	CT3	3	-	23,5	26,1	35,5	41,6	59,8	72,4	76,6
		2	-	24,4	26,2	36,0	51,6	61,9	72,8	77,1
		1	-	23,9	26,6	35,9	50,9	63,1	71,6	77,5
	XPH3	3	-	22,6	25,1	33,2	41,0	57,7	72,2	76,4
		2	-	23,1	24,7	32,2	53,0	59,5	73,0	76,6
		1	-	23,4	25,2	34,5	48,2	59,0	72,1	76,6

A 10: T-Verluste (%) der Kraftfuttermittel aus Versuch V3-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, XB1, XB2 und XB3) und Inkubationsdauer (0-16 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)				
			0	2	4	8	16
Gerste	K	6	19,2	56,2	73,6	83,2	87,8
		5	17,1	65,9	65,8	83,0	87,5
		4	19,0	59,7	71,8	78,9	86,4
	XB1	6	21,1	62,3	74,6	81,5	84,9
		5	22,3	62,7	70,3	79,0	87,8
		4	20,5	59,9	73,5	79,3	87,2
	XB2	6	21,8	62,1	76,9	81,5	85,6
		5	21,3	66,8	73,2	82,2	87,8
		4	19,1	60,6	73,4	82,3	87,1
	XB3	6	23,1	63,2	78,2	79,5	86,3
		5	21,8	66,5	69,9	81,7	87,3
		4	22,6	62,1	73,3	80,2	85,4
Biertreber	K	6	17,2	21,5	31,3	43,2	54,2
		5	17,2	23,8	27,2	38,4	53,1
		4	16,9	21,3	27,0	31,5	46,6
	XB1	6	16,8	24,8	31,5	38,3	49,6
		5	16,7	25,5	30,5	38,3	53,1
		4	16,8	24,3	28,9	31,2	50,2
	XB2	6	18,5	26,1	32,2	42,6	53,4
		5	17,9	26,5	30,4	41,2	53,9
		4	16,8	25,3	30,6	41,4	47,5
	XB3	6	19,2	26,0	33,9	41,1	54,3
		5	17,4	26,5	29,9	41,7	53,9
		4	17,5	25,0	29,9	41,4	45,4
Getreideschlempe	K	6	46,9	54,0	60,0	64,8	70,0
		5	46,8	55,7	58,8	63,4	68,7
		4	46,7	53,5	58,0	61,0	67,0
	XB1	6	47,9	56,2	59,7	63,0	68,4
		5	48,9	56,9	59,5	62,6	70,1
		4	47,3	55,5	59,0	61,2	67,6
	XB2	6	47,1	56,3	61,1	64,3	69,4
		5	47,7	57,2	58,9	65,2	69,2
		4	46,4	55,8	59,9	63,0	67,6
	XB3	6	47,1	55,3	61,2	64,4	69,0
		5	47,2	56,8	57,5	61,9	68,1
		4	47,7	55,5	58,1	62,3	67,3

A 11: T-Verluste (%) der Grundfuttermittel aus Versuch V3-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, CT1, CT2 und CT3) und Inkubationsdauer (0-16 h)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Inkubationszeit (h)				
			0	2	4	8	16
Maissilage	K	1	48,0	45,3	47,5	48,9	63,1
		2	47,6	46,8	46,5	54,2	57,1
		3	47,6	45,5	47,7	49,1	60,8
	CT1	1	47,9	45,4	47,9	50,7	61,8
		2	47,9	47,7	48,1	53,6	60,9
		3	48,6	46,1	47,8	48,2	62,5
	CT2	1	48,6	46,5	49,0	54,0	61,0
		2	48,5	48,4	48,7	53,9	60,1
		3	49,0	47,8	49,4	50,9	61,9
CT3	1	50,1	47,4	49,9	52,0	63,2	
	2	49,4	49,2	49,9	55,6	58,5	
	3	49,6	49,0	50,3	51,7	60,8	
Grassilage	K	1	47,5	48,8	52,7	60,6	74,7
		2	47,3	48,2	50,6	58,1	70,0
		3	48,2	48,1	50,8	58,1	72,3
	CT1	1	48,1	48,9	53,0	61,8	73,5
		2	47,7	48,7	52,6	63,9	74,2
		3	47,6	48,4	51,1	56,3	67,9
	CT2	1	48,4	50,0	53,3	64,4	74,3
		2	48,5	49,7	52,1	60,7	71,0
		3	48,3	49,1	50,6	59,1	72,8
CT3	1	48,6	49,8	54,2	63,4	75,0	
	2	48,4	49,6	53,0	62,8	70,7	
	3	48,6	49,9	52,0	60,0	69,0	
Heu	K	1	21,5	23,3	26,6	35,8	52,7
		2	21,4	23,1	26,1	33,0	47,3
		3	21,4	23,3	25,6	30,9	52,5
	CT1	1	21,5	23,7	26,4	35,1	51,1
		2	21,4	23,1	25,4	35,9	51,4
		3	21,5	22,9	25,9	28,8	48,9
	CT2	1	21,8	23,9	27,0	36,9	53,3
		2	21,8	23,6	26,6	34,0	50,5
		3	22,0	23,4	25,6	31,5	48,9
CT3	1	21,6	24,1	27,1	33,6	50,4	
	2	21,9	24,0	26,7	34,9	50,7	
	3	21,8	23,9	26,3	35,1	53,5	

Parameter der potentiellen Abbaubarkeit**A 12: *In sacco*-Parameter der Maissilage aus Versuch V1-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A und C) und Konzentrationsstufe (1-3)**

Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
		(%)	(%)	(%/ h)	(%)	(h)
K	1	48,4	35,8	4,87	84,2	6,57
	2	48,1	34,1	6,78	82,2	6,12
	3	49,1	27,2	10,33	76,2	12,3
	4	48,4	35,6	5,62	84,0	3,52
	5	48,7	34,0	5,71	82,7	6,31
	6	48,7	35,0	5,15	83,7	5,17
A1	1	48,1	35,1	5,44	83,2	6,02
	2	48,5	34,2	5,79	82,7	4,73
	3	49,0	27,1	6,04	76,1	6,88
	4	49,2	34,0	7,20	83,2	6,61
	5	49,6	33,0	5,90	82,6	6,72
	6	48,3	35,4	4,94	83,6	3,55
A2	1	48,3	34,5	5,51	82,8	5,38
	2	48,3	33,9	5,53	82,1	3,09
	3	48,5	29,6	4,68	78,1	6,24
	4	48,8	33,9	6,65	82,7	6,57
	5	49,3	32,1	7,05	81,4	8,71
	6	48,2	36,3	3,98	84,5	3,08
A3	1	49,3	34,2	5,88	83,5	6,35
	2	48,8	32,7	7,00	81,5	5,26
	3	48,9	26,5	4,06	75,4	5,04
	4	49,2	34,1	6,22	83,2	6,25
	5	49,3	33,1	5,97	82,4	7,06
	6	48,4	36,1	4,23	84,4	2,83
C1	1	50,3	34,3	5,16	84,6	5,52
	2	49,8	32,4	6,92	82,2	5,49
	3	50,3	32,3	3,74	82,6	5,41
	4	49,9	36,6	3,96	86,5	3,62
	5	50,2	34,5	4,34	84,7	6,28
	6	49,7	33,3	6,21	83,0	4,43
C2	1	49,8	34,2	5,18	84,0	4,86
	2	49,2	33,4	6,05	82,6	4,36
	3	50,7	28,0	3,95	78,7	6,35
	4	50,2	34,1	5,45	84,3	6,33
	5	49,7	35,3	3,81	85,0	3,86
	6	49,1	34,7	5,06	83,8	3,26
C3	1	50,7	33,1	5,54	83,8	6,21
	2	50,3	33,4	4,87	83,7	8,69
	3	51,2	32,9	2,58	84,1	3,22
	4	50,7	34,2	4,71	84,9	3,75
	5	51,1	33,1	4,48	84,2	5,86
	6	50,2	34,5	4,41	84,7	3,09

A 13: *In sacco*-Parameter der Maissilage aus Versuch V1-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (R) und Konzentrationsstufe (1-3)

Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
		(%)	(%)	(%/ h)	(%)	(h)
R1	1	49,4	32,7	7,19	82,1	6,52
	2	48,5	33,6	5,85	82,1	3,29
	4	48,5	34,7	5,78	83,2	5,88
	5	48,9	33,4	5,93	82,3	6,07
	6	48,5	35,5	4,40	84,0	2,56
R2	1	49,2	33,9	6,31	83,1	5,32
	2	48,9	31,9	8,38	80,9	6,49
	3	49,3	32,9	3,98	82,2	5,66
	4	48,9	35,5	5,10	84,4	5,16
	5	49,3	32,1	6,99	81,4	6,62
	6	49,0	33,2	5,53	82,2	2,43
R3	1	51,0	34,3	4,38	85,3	4,41
	2	49,9	32,4	6,07	82,3	3,37
	4	50,5	35,7	3,99	86,2	3,47
	5	50,7	33,5	4,20	84,2	4,67
	6	50,5	31,9	5,79	82,4	3,07

A 14: *In sacco*-Parameter der Krafftuttermittel aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, A2, C2 und R3)

Futtermittel	Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
			(%)	(%)	(%/ h)	(%)	(h)
Gerste	K	1	23,2	64,8	36,9	88,0	0,00
		2	21,6	68,4	38,3	90,0	0,00
		3	26,9	62,9	23,7	89,8	0,00
	A2	1	22,0	67,5	40,0	89,5	0,00
		2	25,7	63,1	39,7	88,8	0,00
		3	25,2	63,0	51,0	88,2	0,00
	C2	1	24,8	65,6	46,1	90,4	0,00
		2	25,7	64,5	41,8	90,1	0,00
		3	23,2	65,4	35,4	88,6	0,00
R3	1	24,7	64,2	50,1	88,9	0,00	
	2	22,2	66,5	56,0	88,6	0,00	
	3	22,5	66,5	50,3	89,0	0,00	
Biertreber	K	1	32,0	41,9	5,56	73,9	0,00
		2	30,4	44,6	7,25	75,0	0,51
		3	34,0	41,4	7,63	75,4	2,37
	A2	1	30,4	45,0	6,25	75,4	1,64
		2	35,4	44,1	3,30	79,5	3,25
		3	34,9	40,5	7,89	75,4	1,82
	C2	1	35,7	39,0	5,97	74,6	0,00
		2	34,9	40,8	7,05	75,7	1,29
		3	30,4	45,7	3,92	76,1	0,54
R3	1	39,8	36,1	5,67	75,9	0,00	
	2	34,2	42,2	6,77	76,4	0,00	
	3	34,7	40,0	7,57	74,7	0,00	
Körnermais	K	1	24,7	75,3	3,74	100	6,26
		2	20,4	79,6	3,90	100	0,60
		3	15,6	84,4	3,51	100	1,24
	A2	1	24,2	75,8	3,46	100	0,00
		2	22,7	77,3	3,28	100	0,00
		3	15,3	73,8	6,66	89,1	0,00
	C2	1	16,7	83,3	4,35	100	0,00
		2	18,0	82,0	3,26	100	0,00
		3	20,4	79,6	2,64	100	0,40
R3	1	17,5	82,5	3,27	100	0,00	
	2	21,0	79,1	3,48	100	0,00	
	3	20,4	79,6	3,37	100	0,41	
Trockenschnitzel	K	1	32,3	63,9	7,53	96,2	3,03
		2	32,7	64,7	16,1	97,4	3,19
		3	30,2	68,2	8,06	98,4	2,37
	A2	1	32,3	65,3	8,49	97,5	3,26
		2	28,8	68,0	7,89	96,8	1,45
		3	28,8	69,2	8,50	98,0	1,33
	C2	1	28,8	69,5	11,0	98,3	1,79
		2	28,8	67,6	10,7	96,4	1,37
		3	33,8	61,0	12,5	94,8	6,86
R3	1	28,8	67,3	10,8	96,1	1,77	
	2	32,9	65,4	7,10	98,3	2,82	
	3	32,9	64,7	10,9	97,5	3,48	

A 15: In sacco-Parameter der Grundfuttermittel aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, A2, C2 und R3)

Futtermittel	Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
			(%)	(%)	(%/ h)	(%)	(h)
Maissilage	K	1	50,3	31,6	4,52	81,9	4,00
		2	49,5	30,7	5,48	80,2	5,80
		3	52,1	32,8	4,12	84,9	6,67
	A2	1	50,6	37,9	3,25	88,5	2,69
		2	51,9	31,1	4,24	83,0	6,42
		3	51,4	35,7	3,16	87,1	7,26
	C2	1	52,0	34,3	2,95	86,3	3,60
		2	50,9	35,1	3,50	86,0	3,20
		3	52,2	31,0	4,60	83,2	11,5
	R3	1	51,6	27,1	8,23	78,7	3,85
		2	53,0	29,6	6,40	82,6	4,59
		3	52,3	34,8	3,86	87,1	1,74
Grassilage	K	1	44,6	43,8	5,96	88,4	1,92
		2	44,7	42,0	7,33	86,6	2,72
		3	47,5	42,2	6,29	89,7	2,95
	A2	1	44,6	43,0	6,28	87,6	1,74
		2	47,1	40,0	7,85	87,1	2,86
		3	47,4	41,5	6,14	88,9	1,82
	C2	1	48,0	39,6	7,19	87,6	3,03
		2	47,4	40,1	7,18	87,5	1,63
		3	44,5	40,7	8,04	85,2	2,68
	R3	1	47,4	40,8	6,60	88,2	0,74
		2	44,6	43,1	7,14	87,7	1,42
		3	44,6	43,2	7,69	87,8	1,31
Heu	K	1	21,9	59,6	5,37	81,5	1,79
		2	21,9	58,6	6,92	80,5	1,67
		3	22,2	59,8	5,40	82,0	3,78
	A2	1	22,1	60,8	4,85	82,8	2,85
		2	20,9	58,8	5,40	79,7	1,30
		3	20,9	60,2	6,43	81,1	1,39
	C2	1	20,9	60,5	7,08	81,4	1,42
		2	20,9	63,0	4,85	83,9	0,85
		3	22,3	56,9	4,67	79,2	3,15
	R3	1	20,9	58,6	5,76	79,5	0,76
		2	21,9	58,8	6,07	80,7	1,52
		3	21,9	60,9	6,11	82,8	1,26
TMR	K	1	55,3	40,7	2,48	96,0	1,65
		2	55,1	35,3	5,26	90,4	2,45
		3	47,6	42,8	6,19	90,4	3,53
	A2	1	55,3	38,3	3,80	93,6	1,68
		2	48,7	45,4	2,73	94,2	0,00
		3	48,3	42,9	3,91	91,2	0,00
	C2	1	47,8	42,0	5,31	89,8	0,00
		2	47,3	42,5	6,01	89,8	0,48
		3	55,3	44,7	1,79	100	1,88
	R3	1	47,3	44,9	3,89	92,2	0,14
		2	54,6	37,0	4,11	91,7	4,49
		3	54,4	37,5	4,67	91,8	2,00

A 16 In sacco-Parameter von Gerste, Biotreber und Getreideschlempe aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, R2 und R3)

Futtermittel	Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
			(%)	(%)	(%/h)	(%)	(h)
Gerste	K	1	21,9	67,1	48,5	89,0	0,00
		2	21,9	67,4	40,8	89,3	0,00
		3	22,9	66,4	39,6	89,3	0,00
		4	23,1	65,6	41,4	88,8	0,00
		5	24,7	64,5	33,0	89,2	0,00
		6	24,7	64,7	36,2	89,3	0,00
	R2	1	22,5	66,4	60,2	88,9	0,00
		2	22,6	65,7	51,9	88,3	0,00
		3	24,1	65,4	36,2	89,5	0,00
		4	24,2	64,1	34,9	88,2	0,00
		5	21,9	67,4	44,8	89,3	0,00
		6	21,5	68,2	48,7	89,7	0,00
	R3	1	23,5	64,7	61,4	88,1	0,00
		2	23,5	65,0	61,6	88,4	0,00
		3	21,7	67,3	51,6	89,0	0,00
		4	21,8	66,0	45,8	87,8	0,00
		5	22,8	66,8	54,2	89,6	0,00
		6	22,7	66,1	65,4	88,7	0,00
Biotreber	K	1	16,7	56,3	6,42	73,0	0,00
		2	15,5	56,8	7,01	72,3	0,71
		3	16,3	56,1	6,37	72,3	0,00
		4	16,9	57,7	4,11	74,6	0,00
		5	17,2	56,2	6,15	73,4	0,80
		6	17,2	57,9	6,04	75,1	0,04
	R2	1	18,1	53,7	7,70	71,8	0,00
		2	18,2	54,8	6,63	73,0	0,00
		3	18,6	55,0	7,35	73,6	0,00
		4	17,8	54,2	6,93	72,0	0,00
		5	16,3	56,3	6,97	72,5	0,00
		6	16,6	54,8	7,98	71,5	0,00
	R3	1	20,1	51,5	9,66	71,6	0,00
		2	20,9	53,1	6,30	74,0	0,00
		3	19,2	52,0	6,99	71,2	0,00
		4	18,9	50,1	6,47	69,0	0,00
		5	19,3	50,3	8,50	69,6	0,00
		6	18,2	52,8	8,23	70,9	0,00
Getreideschlempe	K	1	47,8	42,0	4,75	89,8	0,00
		2	47,1	44,4	4,53	91,5	0,00
		3	47,7	43,5	3,87	91,3	0,00
		4	48,3	43,0	3,41	91,4	0,00
		5	48,4	44,5	3,80	92,9	0,00
		6	47,7	44,2	3,88	91,9	0,00
	R2	1	49,7	39,3	4,62	89,0	0,00
		2	49,4	41,9	4,01	91,2	0,00
		3	49,3	39,6	4,75	88,9	0,00
		4	50,3	35,4	4,04	85,7	0,00
		5	49,1	40,8	4,73	89,9	0,00
		6	49,9	39,6	4,71	89,5	0,00
	R3	1	50,5	39,5	4,58	90,0	0,00
		2	50,2	39,4	4,98	89,5	0,00
		3	51,0	39,3	4,34	90,3	0,00
		4	50,2	38,0	3,89	88,3	0,00
		5	51,1	42,1	3,52	93,2	0,00
		6	49,8	38,6	5,07	88,3	0,00

A 17: In sacco-Parameter von Raps-/ Sonnenblumenextraktionsschrot und Maissilage aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, R2 und R3)

Futtermittel	Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
			(%)	(%)	(%/ h)	(%)	(h)
Rapsextr.schrot	K	1	20,2	63,0	13,0	83,2	1,14
		2	20,2	62,0	17,7	82,2	1,26
		3	18,6	64,9	11,7	83,5	0,93
		4	18,6	64,9	8,33	83,5	0,05
		5	21,0	62,9	14,9	83,9	1,28
		6	21,0	62,6	13,9	83,6	1,06
	R2	1	18,6	62,9	17,8	81,5	1,10
		2	18,6	62,6	16,1	81,2	1,15
		3	21,0	62,5	13,0	83,5	1,06
		4	21,0	62,5	14,2	83,5	1,26
		5	20,2	63,8	15,9	84,0	1,33
		6	20,2	63,2	15,5	83,4	1,06
	R3	1	21,0	62,1	14,1	83,1	1,05
		2	21,0	61,9	19,0	82,9	1,31
		3	20,2	63,5	12,9	83,7	0,87
		4	20,2	63,9	12,4	84,1	1,10
		5	18,6	64,6	12,6	83,2	0,95
		6	18,6	64,4	14,4	83,0	0,90
Sonnenblumen- extr.schrot	K	1	21,9	56,6	20,3	78,5	0,48
		2	21,9	55,8	19,3	77,7	0,37
		3	22,4	57,5	14,4	79,9	0,00
		4	22,4	55,4	14,6	77,8	0,00
		5	22,0	56,7	19,3	78,7	0,61
		6	22,2	56,1	17,2	78,3	0,00
	R2	1	21,8	55,4	21,7	77,2	0,26
		2	21,8	56,7	17,2	78,5	0,27
		3	22,8	56,5	15,9	79,3	0,00
		4	22,0	56,2	13,2	78,2	0,23
		5	22,1	56,2	16,2	78,2	0,00
		6	22,4	56,6	16,4	79,0	0,00
	R3	1	23,7	55,1	18,0	78,8	0,00
		2	22,0	56,9	21,4	78,9	0,29
		3	21,9	56,3	16,4	78,2	0,06
		4	22,4	56,3	12,9	78,7	0,00
		5	22,8	56,8	16,8	79,6	0,00
		6	22,9	56,3	19,6	79,2	0,00
Maissilage	K	1	42,2	41,7	4,43	83,9	6,90
		2	41,6	44,7	3,32	86,3	4,42
		3	41,6	43,3	3,59	84,9	3,65
		4	41,9	34,0	18,2	75,9	13,1
		5	41,7	41,0	4,09	82,7	3,72
		6	41,3	42,7	3,80	84,0	4,27
	R2	1	42,2	48,2	2,47	90,4	0,57
		2	42,1	46,5	2,60	88,6	3,01
		3	42,5	38,6	4,46	81,1	5,13
		4	41,8	35,7	2,06	77,5	0,52
		5	42,8	37,1	5,40	79,9	2,81
		6	42,6	39,4	4,15	82,0	1,97
	R3	1	43,5	36,3	9,76	79,8	12,1
		2	41,8	42,0	3,77	83,8	1,37
		3	42,6	38,8	4,28	81,4	1,79
		4	42,6	39,2	2,35	81,8	0,51
		5	42,2	41,3	4,09	83,5	1,45
		6	42,2	49,4	2,30	91,6	0,79

A 18 In sacco-Parameter von Grassilage, Heu und TMR aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, R2 und R3)

Futtermittel	Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
			(%)	(%)	(%/ h)	(%)	(h)
Grassilage	K	1	35,9	49,8	8,76	85,7	3,70
		2	36,2	47,8	9,48	84,0	2,69
		3	34,5	50,0	6,43	84,5	1,66
		4	35,3	48,8	5,31	84,1	3,24
		5	37,2	46,2	11,47	83,4	3,71
		6	37,6	46,7	9,12	84,3	3,59
	R2	1	34,5	51,6	5,86	86,1	0,78
		2	34,5	49,6	7,25	84,1	1,26
		3	37,6	47,7	7,44	85,2	3,61
		4	36,5	40,1	8,27	76,6	1,83
		5	36,7	45,0	11,9	81,7	3,02
		6	35,8	48,4	8,43	84,2	1,70
	R3	1	36,5	50,1	6,07	86,6	1,55
		2	36,5	49,0	7,54	85,5	0,88
		3	35,8	49,3	8,37	85,1	1,96
		4	35,8	44,7	7,11	80,5	1,52
		5	34,5	49,5	7,49	84,0	1,31
		6	34,5	50,5	7,62	85,0	1,12
Heu	K	1	21,9	55,5	5,83	77,4	3,46
		2	22,0	54,6	6,54	76,5	3,32
		3	18,2	59,7	4,84	77,9	1,69
		4	19,7	57,1	4,45	76,8	3,53
		5	22,1	54,9	5,12	77,0	3,80
		6	20,4	59,3	4,15	79,7	1,49
	R2	1	18,2	62,5	3,98	80,7	1,57
		2	19,4	57,9	4,78	77,3	3,23
		3	22,2	52,7	6,2	74,8	3,73
		4	20,4	59,1	2,95	79,5	1,45
		5	21,2	55,0	5,93	76,2	3,47
		6	22,2	52,4	8,98	74,6	6,05
	R3	1	22,2	52,4	9	74,5	6,92
		2	21,0	54,3	6,51	75,3	3,12
		3	21,5	53,7	5,95	75,1	3,84
		4	21,3	52,5	3,58	73,8	2,71
		5	19,1	55,6	6,84	74,7	3,10
		6	18,2	58,7	5,24	76,9	1,85
TMR	K	1	37,2	46,0	6,04	83,1	0,00
		2	35,9	45,7	7,19	81,6	0,08
		3	36,4	43,7	6,52	80,1	0,00
		4	36,9	45,0	4,56	81,9	0,00
		5	35,7	46,2	7,54	81,9	0,28
		6	36,8	45,2	6,65	82,0	0,00
	R2	1	38,3	43,9	7,06	82,2	0,00
		2	37,8	45,7	4,72	83,5	0,00
		3	35,7	45,6	7,2	81,3	0,29
		4	36,4	44,1	7,18	80,5	0,00
		5	36,9	45,2	7,25	82,1	0,00
		6	37,5	43,1	7,79	80,6	0,00
	R3	1	36,7	45,6	6,28	82,3	0,00
		2	36,7	44,9	7,43	81,5	0,00
		3	38,7	42,5	6,73	81,3	0,00
		4	38,8	37,5	7,16	76,3	0,00
		5	38,5	42,2	6,36	80,6	0,00
		6	37,1	44,3	7,49	81,4	0,00

A 19: *In sacco*-Parameter der Kraftfuttermittel aus Versuch V3-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, XB3, CT3 und XPH3)

Futtermittel	Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
			(%)	(%)	(%/ h)	(%)	(h)
Gerste	K	6	21,9	67,8	33,3	89,7	0,00
		5	22,9	67,2	37,8	90,1	0,00
		4	22,3	66,3	31,5	88,6	0,00
	XB3	6	22,6	65,9	42,8	88,5	0,00
		5	22,2	67,0	52,8	89,1	0,00
		4	22,7	65,0	41,1	87,7	0,00
	CT3	6	22,6	66,7	36,7	89,3	0,00
		5	22,4	66,2	47,2	88,7	0,00
		4	22,7	65,5	40,3	88,2	0,00
	XPH3	6	22,6	66,5	37,3	89,0	0,00
		5	22,5	67,1	40,8	89,6	0,00
		4	22,3	65,6	33,6	87,9	0,00
Biertreber	K	6	16,8	55,0	7,39	71,8	0,23
		5	17,0	55,9	6,55	72,9	0,00
		4	18,0	56,6	3,90	74,6	0,00
	XB3	6	17,4	56,2	7,62	73,6	0,00
		5	19,2	53,0	6,91	72,2	0,00
		4	20,3	51,6	4,72	71,9	0,00
	CT3	6	17,9	57,1	6,16	75,0	0,00
		5	18,3	53,6	6,58	71,9	0,00
		4	18,9	52,0	5,25	70,9	0,00
	XPH3	6	17,1	55,8	6,48	72,9	0,00
		5	17,0	55,3	6,55	72,3	0,00
		4	18,5	52,6	4,40	71,1	0,00
Getreideschlempe	K	6	48,4	41,1	4,61	89,5	0,00
		5	49,1	40,4	4,31	89,5	0,00
		4	49,3	38,5	3,74	87,9	0,00
	XB3	6	49,8	39,8	4,57	89,6	0,00
		5	50,7	40,1	4,10	90,8	0,00
		4	50,1	38,5	3,67	88,6	0,00
	CT3	6	49,5	41,5	4,14	91,1	0,00
		5	49,9	39,0	4,62	88,9	0,00
		4	48,9	36,6	4,75	85,5	0,00
	XPH3	6	49,3	40,3	4,65	89,6	0,00
		5	50,2	39,7	4,32	89,9	0,00
		4	49,9	40,5	3,20	90,4	0,00

A 20: *In sacco*-Parameter der Grundfuttermittel aus Versuch V3-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, XB3, CT3 und XPH3)

Futtermittel	Behandlung	Tier	a	b	c	d	lag
			(%)	(%)	(%/ h)	(%)	(h)
Maissilage	K	3	42,7	57,3	1,68	100	3,08
		2	43,7	39,0	4,99	82,7	2,58
		1	43,5	39,4	4,89	82,9	5,96
	XB3	3	43,0	44,9	2,80	87,9	2,72
		2	43,6	39,9	4,14	83,5	1,66
		1	43,5	41,3	3,72	84,8	2,14
	CT3	3	43,6	53,6	1,80	97,2	1,25
		2	43,6	40,8	3,93	84,4	0,73
		1	43,6	40,1	4,17	83,7	1,37
	XPH3	3	43,0	48,2	2,43	91,2	4,00
		2	43,1	41,2	4,03	84,3	2,71
		1	42,8	42,7	3,52	85,5	3,22
Grassilage	K	3	48,1	41,8	4,69	89,9	1,41
		2	48,2	40,2	6,78	88,4	3,38
		1	48,8	39,8	6,04	88,6	3,05
	XB3	3	48,1	43,2	4,22	91,3	1,35
		2	48,9	38,8	8,10	87,7	3,46
		1	48,8	39,4	7,56	88,2	3,02
	CT3	3	48,1	42,4	4,48	90,5	0,54
		2	48,1	40,7	6,62	88,8	1,44
		1	48,1	40,4	7,05	88,5	1,07
	XPH3	3	48,1	43,2	4,25	91,3	1,79
		2	48,7	40,4	6,13	89,1	3,12
		1	48,1	41,3	5,55	89,4	1,76
Heu	K	3	21,3	60,1	3,75	81,4	1,60
		2	22,3	55,2	5,80	77,5	3,33
		1	22,2	55,2	5,83	77,4	3,40
	XB3	3	21,3	60,4	3,69	81,7	1,45
		2	21,3	56,9	5,20	78,2	1,83
		1	21,3	56,3	5,75	77,6	1,93
	CT3	3	21,3	60,6	3,77	81,9	1,50
		2	21,3	57,4	5,14	78,7	1,62
		1	21,3	57,1	5,24	78,4	1,69
	XPH3	3	21,9	59,9	3,78	81,9	2,89
		2	22,2	55,3	5,75	77,5	3,54
		1	21,3	58,2	4,46	79,5	1,83

Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten**A 21: Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) von Maissilage aus Versuch V1-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A und C), Konzentrationsstufe (1-3) und Passagerate (k)**

Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
		k=2	k=4	k=6	k=8
K	1	69,4	59,4	56,2	54,2
	2	67,8	59,2	56,4	54,4
	3	57,3	52,4	51,4	50,7
	4	71,5	63,2	59,8	57,5
	5	68,7	59,6	56,6	54,7
	6	70,1	61,0	57,8	55,7
A1	1	68,9	59,5	56,5	54,4
	2	69,7	61,2	58,1	56,0
	3	64,4	57,1	54,9	53,4
	4	68,1	59,6	57,0	55,1
	5	68,5	59,7	56,9	55,1
	6	70,9	62,5	59,1	56,8
A2	1	69,2	60,3	57,2	55,1
	2	70,5	62,9	59,6	57,4
	3	66,0	57,8	55,2	53,4
	4	68,0	59,3	56,6	54,7
	5	65,4	57,2	54,9	53,4
	6	70,9	62,4	58,9	56,5
A3	1	69,2	60,2	57,2	55,3
	2	68,4	60,5	57,7	55,7
	3	64,9	57,8	55,3	53,7
	4	69,0	60,1	57,2	55,3
	5	68,0	59,1	56,4	54,5
	6	71,3	63,0	59,5	57,2
C1	1	71,0	61,9	58,8	56,8
	2	69,0	61,1	58,3	56,4
	3	69,4	60,5	57,6	55,7
	4	72,6	63,6	60,1	57,8
	5	70,6	60,9	57,8	55,8
	6	70,6	62,6	59,6	57,4
C2	1	70,9	62,1	59,0	56,9
	2	70,2	62,2	59,1	57,0
	3	67,1	59,1	56,6	55,0
	4	70,2	61,0	58,1	56,1
	5	71,3	62,5	59,1	56,9
	6	71,6	63,5	60,1	57,8
C3	1	70,2	61,3	58,5	56,5
	2	68,8	58,8	56,1	54,5
	3	69,4	61,6	58,7	56,9
	4	72,4	64,0	60,8	58,6
	5	70,9	61,7	58,8	56,8
	6	72,2	64,1	60,8	58,6

A 22: Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) von Maissilage aus Versuch V1-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (R), Konzentrationsstufe (1-3) und Passagerate (k)

Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
		k=2	k=4	k=6	k=8
R1	1	67,7	59,6	57,0	55,2
	2	70,5	62,9	59,7	57,5
	3	-	-	-	-
	4	69,1	60,0	57,0	55,0
	5	68,6	59,8	57,0	55,0
	6	71,5	63,5	60,0	57,7
R2	1	69,7	61,2	58,2	56,2
	2	66,0	58,6	56,2	54,6
	3	68,8	59,7	56,7	54,8
	4	70,6	61,3	58,1	55,9
	5	67,2	59,2	56,6	54,9
	6	71,4	64,3	61,0	58,8
R3	1	72,2	63,4	60,2	58,0
	2	71,2	63,8	60,8	58,6
	3	-	-	-	-
	4	72,7	64,0	60,5	58,3
	5	71,2	62,4	59,3	57,3
	6	71,6	64,4	61,4	59,2

A 23: Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) der Kraffuttermittel aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A2, C2 und R3) und Passagerate (k)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
			k=2	k=4	k=6	k=8
Gerste	K	1	84,7	81,7	78,9	76,5
		2	86,6	83,6	80,8	78,2
		3	84,9	80,7	77,0	73,9
	A2	1	86,3	83,4	80,7	78,2
		2	85,7	83,0	80,5	78,2
		3	85,8	83,6	81,5	79,6
	C2	1	87,6	85,1	82,8	80,7
		2	87,2	84,5	82,0	79,8
		3	85,1	81,9	79,1	76,5
	R3	1	86,4	84,2	82,0	80,1
		2	86,3	84,2	82,2	80,3
		3	86,4	84,1	81,9	79,8
Biertreber	K	1	62,8	56,3	52,1	49,1
		2	64,4	57,6	53,2	50,0
		3	62,7	54,6	50,7	47,9
	A2	1	62,2	53,6	49,2	46,0
		2	61,7	51,1	47,0	44,3
		3	63,9	56,5	52,7	49,9
	C2	1	64,9	59,0	55,1	52,3
		2	64,7	57,5	53,5	50,7
		3	60,4	52,1	47,5	44,5
	R3	1	66,5	61,0	57,3	54,8
		2	66,8	60,7	56,6	53,6
		3	66,4	60,9	57,0	54,2
Körnermais	K	1	68,7	47,1	40,4	36,2
		2	72,4	57,9	50,0	44,7
		3	68,4	51,5	43,3	37,9
	A2	1	72,2	59,4	51,9	47,1
		2	70,7	57,5	50,0	45,2
		3	72,1	61,4	54,1	48,9
	C2	1	73,8	60,1	51,7	46,0
		2	68,8	54,8	46,9	41,7
		3	65,6	51,2	43,9	39,3
	R3	1	68,7	54,6	46,6	41,4
		2	71,1	57,7	50,0	44,9
		3	70,1	55,7	47,9	42,9
	K	1	75,0	61,7	55,9	51,6
		2	69,4	60,0	55,9	52,7
		3	77,5	64,4	58,2	53,6
Trockenschnitzel	A2	1	75,0	61,8	56,1	51,9
		2	78,6	66,8	60,4	55,6
		3	80,2	68,6	62,2	57,4
	C2	1	78,9	67,8	62,0	57,4
		2	79,3	69,0	63,3	58,7
		3	59,3	48,7	45,3	42,9
	R3	1	77,4	66,6	60,9	56,5
		2	77,1	63,5	57,4	53,0
		3	73,0	61,0	56,0	52,2

A 24: Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) der Grundfuttermittel und der TMR aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A2, C2 und R3) und Passagerate (k)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
			k=2	k=4	k=6	k=8
Maissilage	K	1	70,1	62,2	59,2	57,2
		2	67,9	59,8	57,1	55,2
		3	71,3	61,8	58,9	57,1
	A2	1	73,3	64,6	61,0	58,7
		2	70,2	61,3	58,6	56,8
		3	71,5	60,8	57,7	55,9
	C2	1	71,7	63,3	60,1	58,2
		2	72,2	63,8	60,5	58,3
		3	68,2	58,4	56,2	54,9
	R3	1	68,7	63,0	60,6	58,9
		2	71,4	64,3	61,6	59,8
		3	74,5	67,2	63,8	61,5
Grassilage	K	1	75,0	66,2	61,9	58,9
		2	73,2	64,6	60,7	57,9
		3	75,7	66,5	62,5	59,7
	A2	1	74,9	66,6	62,4	59,4
		2	74,1	66,0	62,3	59,7
		3	76,5	68,3	64,2	61,3
	C2	1	74,5	66,1	62,5	59,8
		2	76,2	68,9	65,0	62,2
		3	72,2	64,2	60,5	57,8
	R3	1	77,7	70,9	66,9	64,0
		2	75,9	68,2	64,0	61,0
		3	76,4	68,9	64,9	61,8
Heu	K	1	62,8	50,8	44,9	40,8
		2	63,8	52,9	47,2	43,1
		3	60,6	46,3	40,6	36,7
	A2	1	61,7	47,9	42,0	37,9
		2	62,0	50,8	44,9	40,8
		3	64,1	53,0	47,1	42,9
	C2	1	64,8	53,9	48,1	43,8
		2	64,4	52,9	46,6	42,2
		3	58,9	45,6	40,1	36,4
	R3	1	63,2	53,0	47,1	43,0
		2	63,4	52,3	46,5	42,4
		3	65,5	54,3	48,3	44,0
TMR	K	1	77,7	69,3	65,6	63,4
		2	78,7	71,0	67,6	65,2
		3	75,5	65,7	61,7	58,9
	A2	1	79,6	71,6	67,9	65,4
		2	74,9	67,2	62,9	60,3
		3	76,7	69,5	65,2	62,4
	C2	1	78,3	71,8	67,5	64,6
		2	78,6	71,6	67,4	64,3
		3	76,5	67,7	64,2	62,1
	R3	1	76,8	69,2	64,7	61,7
		2	77,3	67,7	64,2	61,9
		3	79,2	71,3	67,6	65,1

A 25: Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) von Gerste, Biertreber und Getreideschlempe aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Passagerate (k)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
			k=2	k=4	k=6	k=8
Gerste	K	1	86,4	83,9	81,6	79,5
		2	86,1	83,3	80,7	78,2
		3	86,1	83,2	80,5	78,1
		4	85,7	83,0	80,4	78,1
		5	85,5	82,2	79,3	76,6
		6	86,0	82,9	80,1	77,6
	R2	1	86,8	84,8	82,9	81,1
		2	85,9	83,6	81,5	79,5
		3	86,1	83,0	80,2	77,7
		4	84,8	81,6	78,8	76,3
		5	86,4	83,8	81,3	79,1
		6	87,0	84,5	82,2	80,1
	R3	1	86,1	84,2	82,4	80,7
		2	86,4	84,5	82,7	81,0
		3	86,5	84,1	82,0	80,0
		4	85,1	82,5	80,2	78,0
		5	87,2	85,0	82,9	81,0
		6	86,8	84,9	83,2	81,5
Biertreber	K	1	59,6	51,4	45,8	41,7
		2	58,2	49,0	43,4	39,4
		3	58,9	50,7	45,1	41,1
		4	55,7	46,2	40,4	36,5
		5	58,3	48,6	43,0	39,0
		6	60,6	51,9	46,1	42,0
	R2	1	60,8	53,5	48,3	44,5
		2	60,3	52,4	47,0	43,0
		3	61,8	54,2	48,9	44,9
		4	59,9	52,2	46,9	43,0
		5	60,0	52,0	46,5	42,5
		6	60,5	53,2	47,9	44,0
	R3	1	62,8	56,5	51,9	48,3
		2	61,2	53,4	48,1	44,3
		3	59,6	52,3	47,2	43,5
		4	57,2	49,9	44,9	41,3
		5	60,0	53,5	48,8	45,2
		6	60,6	53,7	48,7	44,9
Getreideschlempe	K	1	77,4	70,6	66,4	63,5
		2	77,9	70,7	66,2	63,2
		3	76,4	69,1	64,8	61,9
		4	75,5	68,1	63,9	61,2
		5	77,5	70,1	65,6	62,7
		6	76,8	69,4	65,0	62,1
	R2	1	77,1	70,8	66,8	64,1
		2	77,3	70,3	66,1	63,3
		3	77,2	70,8	66,8	64,0
		4	74,0	68,1	64,5	62,2
		5	77,7	71,2	67,0	64,2
		6	77,7	71,3	67,3	64,6
	R3	1	78,0	71,6	67,6	64,9
		2	78,3	72,0	68,0	65,3
		3	77,9	71,4	67,5	64,8
		4	75,3	69,0	65,2	62,7
		5	77,9	70,8	66,6	63,9
		6	77,4	71,3	67,4	64,7

A 26: Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) von Raps-/ Sonnenblumenextraktionsschrot und Maissilage aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Passagerate (k)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
			k=2	k=4	k=6	k=8
Rapsextr.schrot	K	1	68,4	59,9	54,9	50,9
		2	65,9	58,7	54,6	51,1
		3	69,3	60,4	55,0	50,7
		4	70,8	62,2	56,1	51,4
		5	68,0	59,9	55,3	51,5
		6	69,2	61,2	56,4	52,5
	R2	1	66,1	59,0	54,8	51,2
		2	65,9	58,4	53,9	50,3
		3	69,2	60,9	56,0	52,0
		4	68,0	59,8	55,1	51,3
		5	67,4	59,4	54,9	51,1
		6	68,8	61,1	56,5	52,7
	R3	1	68,9	61,0	56,2	52,4
		2	65,9	58,9	54,9	51,6
		3	70,2	62,0	56,9	52,9
		4	69,2	60,5	55,4	51,2
		5	69,0	60,5	55,2	51,1
		6	69,2	61,3	56,4	52,4
Sonnenblumen- extr.schrot	K	1	69,1	64,0	60,4	57,3
		2	69,3	64,3	60,6	57,5
		3	72,9	67,4	63,0	59,4
		4	71,1	65,9	61,7	58,2
		5	68,2	62,8	59,1	56,0
		6	72,4	67,7	63,7	60,4
	R2	1	70,0	65,5	62,2	59,3
		2	70,5	65,2	61,2	57,9
		3	73,0	67,9	63,8	60,4
		4	69,6	63,5	59,0	55,3
		5	72,0	67,1	63,1	59,7
		6	72,8	67,9	63,8	60,4
	R3	1	73,3	68,7	65,0	61,8
		2	71,2	66,6	63,1	60,1
		3	71,7	66,6	62,6	59,2
		4	71,2	65,4	60,8	57,1
		5	73,5	68,6	64,6	61,2
		6	74,0	69,6	66,0	62,9
Maissilage	K	1	66,5	54,4	50,8	48,5
		2	67,9	56,3	52,1	49,5
		3	67,8	57,1	53,0	50,4
		4	45,5	43,4	43,0	42,7
		5	67,2	57,0	53,1	50,5
		6	67,2	56,2	52,2	49,6
	R2	1	68,8	59,9	55,6	52,9
		2	67,9	57,1	52,9	50,3
		3	66,0	55,7	52,1	49,8
		4	59,9	53,6	50,6	48,7
		5	67,4	59,1	55,5	53,0
		6	68,1	59,7	55,8	53,2
	R3	1	55,3	48,4	46,9	45,8
		2	68,6	60,1	56,0	53,2
		3	68,0	59,9	56,0	53,4
		4	63,8	56,7	53,2	51,1
		5	69,1	60,8	56,7	53,9
		6	68,6	59,4	55,0	52,4

A 27: Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) von Grassilage, Heu und TMR aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Passagerate (k)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
			k=2	k=4	k=6	k=8
Grassilage	K	1	67,4	57,2	53,0	49,9
		2	68,4	59,6	55,5	52,4
		3	69,9	60,4	55,5	52,0
		4	67,1	55,8	51,1	47,9
		5	64,9	56,5	53,1	50,4
		6	67,2	57,8	53,9	51,0
	R2	1	71,9	62,9	57,8	54,1
		2	70,9	62,2	57,4	53,9
		3	68,4	58,1	53,8	50,7
		4	65,3	58,1	54,4	51,6
		5	65,2	57,5	54,1	51,4
		6	70,9	62,4	57,9	54,6
	R3	1	71,9	62,3	57,4	53,9
		2	73,4	65,5	60,7	57,3
		3	71,0	62,0	57,5	54,1
		4	68,1	59,9	55,7	52,5
		5	70,8	62,2	57,5	54,0
		6	72,1	63,6	58,8	55,2
Heu	K	1	58,1	45,3	40,1	36,4
		2	57,9	45,8	40,7	37,1
		3	58,4	46,3	40,4	36,3
		4	55,8	42,0	36,5	32,8
		5	57,1	43,8	38,6	35,1
		6	59,2	47,2	41,3	37,3
	R2	1	58,6	45,7	39,5	35,4
		2	56,7	43,1	37,5	33,7
		3	56,2	44,0	39,1	35,7
		4	55,1	43,1	37,5	34,0
		5	57,1	44,5	39,3	35,6
		6	50,3	38,8	34,9	32,1
	R3	1	48,6	36,9	33,3	30,7
		2	57,1	45,2	40,1	36,5
		3	56,0	43,3	38,3	34,8
		4	53,6	41,5	36,4	33,2
		5	56,1	44,1	39,0	35,2
		6	58,2	46,3	40,4	36,4
TMR	K	1	71,7	64,8	60,2	57,0
		2	71,5	65,0	60,5	57,3
		3	69,8	63,5	59,1	56,0
		4	68,2	60,9	56,4	53,3
		5	71,6	64,9	60,5	57,2
		6	71,5	65,0	60,5	57,3
	R2	1	72,5	66,4	62,1	58,9
		2	69,9	62,6	57,9	54,8
		3	70,9	64,1	59,7	56,4
		4	70,9	64,7	60,4	57,2
		5	72,3	66,0	61,7	58,4
		6	71,8	65,9	61,8	58,7
	R3	1	71,3	64,5	60,0	56,7
		2	72,0	65,8	61,5	58,3
		3	71,5	65,4	61,2	58,2
		4	68,1	62,9	59,2	56,5
		5	70,5	64,3	60,1	57,1
		6	72,0	65,9	61,7	58,5

A 28 Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) der Kraftfuttermittel aus Versuch V3-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, XB3, CT3 und XPH3) und Passagerate (k)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
			k=2	k=4	k=6	k=8
Gerste	K	6	85,8	82,4	79,3	76,5
		5	86,7	83,7	80,9	78,4
		4	84,6	81,1	77,9	75,1
	XB3	6	85,6	82,9	80,4	78,2
		5	86,7	84,4	82,3	80,3
		4	84,7	81,9	79,4	77,1
	CT3	6	85,8	82,7	79,9	77,4
		5	86,0	83,5	81,2	79,1
		4	85,1	82,3	79,7	77,3
	XPH3	6	85,6	82,6	79,8	77,3
		5	86,4	83,6	81,0	78,6
		4	84,2	80,9	78,0	75,3
Biertreber	K	6	59,6	51,6	46,2	42,3
		5	59,8	51,7	46,2	42,2
		4	55,4	45,9	40,3	36,5
	XB3	6	61,9	54,3	48,8	44,8
		5	60,3	52,7	47,5	43,7
		4	56,5	48,2	43,0	39,4
	CT3	6	61,0	52,5	46,8	42,7
		5	59,4	51,6	46,3	42,5
		4	56,6	48,4	43,2	39,5
	XPH3	6	59,7	51,6	46,1	42,1
		5	59,4	51,3	45,9	41,9
		4	54,6	46,0	40,7	37,1
Getreideschlempe	K	6	77,1	70,4	66,3	63,4
		5	76,7	70,0	66,0	63,2
		4	74,4	68,0	64,1	61,6
	XB3	6	77,5	71,0	67,0	64,3
		5	77,6	71,0	67,0	64,3
		4	75,0	68,5	64,7	62,2
	CT3	6	77,5	70,7	66,5	63,7
		5	77,1	70,8	66,8	64,1
		4	74,6	68,7	65,0	62,5
	XPH3	6	77,5	71,0	66,9	64,1
		5	77,3	70,8	66,8	64,1
		4	74,8	67,9	64,0	61,5

A 29 Effektive ruminale T-Abbaubarkeiten (%) der Grundfuttermittel aus Versuch V3-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, XB3, CT3 und XPH3) und Passagerate (k)

Futtermittel	Behandlung	Tier	Passagerate (k)			
			k=2	k=4	k=6	k=8
Maissilage	K	3	69,1	56,9	52,6	50,1
		2	69,5	60,9	57,0	54,4
		1	67,0	56,2	52,7	50,4
	XB3	3	68,6	58,4	54,2	51,7
		2	69,6	61,3	57,4	54,7
		1	69,4	60,4	56,3	53,7
	CT3	3	69,1	59,1	54,8	52,3
		2	70,3	62,7	58,6	55,9
		1	69,9	61,9	57,9	55,2
	XPH3	3	69,0	57,1	52,9	50,4
		2	69,2	59,8	55,8	53,1
		1	68,8	58,5	54,4	51,8
Grassilage	K	3	76,3	68,1	63,9	61,0
		2	74,6	65,8	62,1	59,4
		1	75,2	66,4	62,6	59,9
	XB3	3	76,5	67,9	63,6	60,7
		2	74,1	66,0	62,6	60,1
		1	75,2	67,0	63,4	60,8
	CT3	3	77,0	69,5	65,2	62,3
		2	77,3	69,9	65,9	63,0
		1	77,9	71,0	67,1	64,2
	XPH3	3	76,3	67,3	63,0	60,1
		2	75,5	66,5	62,7	60,0
		1	76,6	68,4	64,3	61,4
Heu	K	3	59,4	47,0	41,1	37,2
		2	58,5	45,9	40,6	36,9
		1	58,2	45,6	40,4	36,7
	XB3	3	59,5	47,2	41,3	37,4
		2	60,0	48,5	42,8	38,9
		1	60,1	48,8	43,2	39,3
	CT3	3	59,8	47,5	41,5	37,6
		2	60,6	49,1	43,4	39,4
		1	60,4	49,0	43,3	39,4
	XPH3	3	59,2	45,2	39,4	35,6
		2	58,1	45,3	40,1	36,4
		1	59,7	47,6	41,8	37,9

NDF-Verluste**A 30: NDF-Verluste (%) der Maissilage aus Versuch V1-1 nach 0 und 8 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, C3 und R3)**

Behandlung	Tier/ Beutel	Inkubationszeit	
		0 h	8 h
K	1	11,3	12,9
	2	8,91	14,8
	3	10,9	12,2
	4	-	19,3
	5	-	13,6
	6	-	19,6
C3	1	12,0	17,8
	2	12,7	22,4
	3	12,5	22,3
	4	-	19,0
	5	-	16,8
	6	-	20,7
R3	1	14,7	22,6
	2	15,7	26,7
	3	16,8	16,8
	4	-	17,2
	5	-	19,4
	6	-	25,1

A 31: NDF-Verluste (%) der Kraft- und Grundfuttermittel/ TMR aus Versuch V1-2 nach 4 bzw. 8 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, C2 und R3)

Behandlung	Inkubationszeit	Tier	Futtermittel			
			Gerste	Biertreber	Körnermais	Trockenschnitzel
K	4 h	1	16,3	24,3	13,7	17,5
		2	20,1	21,5	24,3	22,2
		3	18,9	16,6	15,0	16,3
C2	4 h	1	30,7	14,4	17,7	20,8
		2	20,5	19,0	21,2	24,6
		3	17,0	26,9	10,3	16,8
R3	4 h	1	30,2	28,6	16,1	23,7
		2	23,0	31,3	15,6	22,8
		3	21,1	31,1	15,2	19,2
			Maissilage	Grassilage	Heu	TMR
K	8 h	1	18,5	10,3	17,4	39,2
		2	10,8	11,2	19,8	41,1
		3	18,0	16,9	9,07	27,0
C2	8 h	1	17,8	19,0	24,9	38,2
		2	21,1	28,2	22,7	35,6
		3	11,7	29,3	14,1	35,5
R3	8 h	1	27,1	40,0	29,0	34,4
		2	23,5	26,2	19,3	35,5
		3	18,0	35,0	19,7	42,9

A 32: NDF-Verluste (%) der Futtermittel aus Versuch V2-1 nach 4 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, R2 und R3)

Behandlung	Tier	Futtermittel								TMR
		Biertreber	Gerste	Getreide- schlempe	Grassilage	Heu	Maissilage	Raps.extr.- schrot	Sonnenbl.- extr.schrot	
K	1	7,36	17,7	29,0	4,11	2,98	1,37	7,68	7,49	4,67
	2	5,78	17,6	31,2	4,28	3,45	1,62	7,27	9,44	2,86
	3	10,2	19,7	29,9	2,49	1,99	-0,49	4,85	9,82	3,63
	4	7,10	14,2	31,7	1,57	0,25	0,04	5,48	8,54	2,42
	5	11,5	23,8	28,5	4,04	3,32	0,58	6,92	4,83	5,41
	6	11,3	16,7	30,6	6,71	3,24	0,30	9,43	5,70	6,56
R2	1	15,3	12,0	33,3	7,45	1,45	0,18	9,80	-	3,27
	2	14,2	18,0	36,5	6,89	4,55	1,05	12,3	10,9	2,63
	3	17,6	25,5	35,4	9,30	0,95	3,26	8,63	6,20	6,59
	4	19,1	18,2	34,4	7,56	0,96	1,54	6,71	8,18	6,36
	5	15,9	23,5	34,2	5,38	2,81	2,57	7,38	5,04	6,44
	6	18,9	27,1	38,0	6,11	2,84	3,68	13,4	0,67	5,00
R3	1	23,2	22,5	39,5	14,9	4,19	3,36	14,6	9,23	9,17
	2	18,4	15,3	37,2	8,85	4,25	2,80	14,9	7,04	6,88
	3	18,3	26,9	38,1	6,16	3,93	3,18	13,2	11,7	5,68
	4	18,3	27,3	36,1	8,22	1,58	1,75	11,2	8,50	5,91
	5	20,8	21,6	36,9	5,96	3,17	4,90	10,8	4,70	10,2
	6	18,4	16,9	32,6	6,49	4,50	2,91	10,8	7,19	8,60

A 33: NDF-Verluste (%) der Futtermittel aus Versuch V3-1 nach 4 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, XB3, CT3 und XPH3)

Behandlung	Tier	Futtermittel					
		Biertreber	Gerste	Getreide- schlempe	Grassilage	Heu	Maissilage
K	1	11,1	21,1	27,7	10,7	6,41	-1,83
	2	10,1	17,7	29,7	7,30	5,82	1,90
	3	8,2	16,4	27,7	8,12	4,41	0,31
XB3	1	15,6	20,1	28,1	12,5	7,77	0,11
	2	15,5	23,6	31,7	10,4	6,39	0,59
	3	14,8	20,0	28,9	11,5	7,26	2,41
CT3	1	11,3	15,0	26,5	14,7	7,18	1,90
	2	13,4	17,6	31,0	11,7	6,75	5,41
	3	9,72	15,1	29,5	14,3	6,90	4,29
XPH3	1	14,5	15,9	31,6	7,66	4,87	-0,58
	2	11,8	21,2	27,0	8,36	3,42	1,16
	3	10,3	18,4	27,0	11,5	4,27	1,45

A 34: NDF-Verluste (%) der Kraftfuttermittel aus Versuch V3-2 nach 0 und 4 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Xylanase (*Bacillus subtilis*)- Zulage

Behandlung	Inkubations- zeit	Tier	Futtermittel		
			Biertreber	Gerste	Getreide- schlempe
K	0 h	1	2,41	2,27	13,4
		2	2,47	-0,32	13,3
		3	2,07	2,02	13,1
XB1	0 h	1	1,76	11,0	17,3
		2	1,68	12,4	18,9
		3	1,80	10,4	16,4
XB2	0 h	1	6,30	14,2	17,6
		2	5,56	13,7	18,6
		3	4,26	11,4	16,6
XB3	0 h	1	6,07	15,7	16,6
		2	3,99	14,3	16,8
		3	4,09	15,2	17,4
K	4 h	1	16,4	22,7	32,9
		2	7,51	18,8	30,9
		3	9,79	20,5	29,9
XB1	4 h	1	15,8	23,2	32,9
		2	13,7	19,5	33,4
		3	13,9	22,2	33,4
XB2	4 h	1	17,9	25,4	34,5
		2	15,7	24,1	33,0
		3	15,0	23,2	35,0
XB3	4 h	1	18,5	21,4	36,7
		2	15,2	20,8	31,2
		3	16,6	25,3	33,6

A 35: NDF-Verluste (%) der Grundfuttermittel aus Versuch V3-2 nach 0 und 4 h Inkubationsdauer in Abhängigkeit der Cellulase (*Trichoderma reesei*)-Zulage

Behandlung	Inkubations-zeit	Tier	Futtermittel		
			Grassilage	Heu	Maissilage
K	0 h	4	3,35	0,76	1,11
		5	3,08	0,60	0,28
		6	4,59	0,55	0,30
CT1	0 h	4	3,63	0,73	-0,37
		5	2,80	0,59	-0,38
		6	2,62	0,76	0,91
CT2	0 h	4	5,91	1,31	2,42
		5	6,09	1,33	2,17
		6	5,66	1,56	3,07
CT3	0 h	4	5,64	0,54	2,93
		5	5,27	0,94	1,54
		6	5,63	0,87	1,97
K	4 h	4	10,5	6,42	1,14
		5	7,10	3,00	-0,70
		6	6,65	3,15	4,83
CT1	4 h	4	12,7	5,80	4,77
		5	11,6	3,44	-0,90
		6	8,68	5,68	2,28
CT2	4 h	4	13,0	5,81	6,89
		5	10,6	5,32	3,98
		6	7,76	4,51	2,23
CT3	4 h	4	14,8	4,95	7,68
		5	13,2	3,27	5,47
		6	11,6	4,71	6,87

Gesamtverdaulichkeit**A 36: Gesamtverdaulichkeit (%) von OM, XF, NDF und Stärke in Versuch V1-2 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, A2, C2 und R3)**

Behandlung	Tier	OM	XF	NDF	Stärke
K	1	76,2	70,7	75,5	95,4
	2	75,4	69,5	73,5	97,9
	3	66,1	61,1	57,8	95,8
A2	1	74,4	69,3	75,0	96,8
	2	75,8	71,6	75,6	95,0
	3	72,4	65,5	69,6	96,7
C2	1	73,5	67,6	74,5	97,9
	2	77,2	74,0	78,0	95,9
	3	76,6	69,1	71,0	96,2
R3	1	73,3	67,3	73,5	96,1
	2	75,3	69,0	71,5	98,3
	3	76,4	71,0	75,2	96,5

A 37 Gesamtverdaulichkeit (%) von OM, XF, und NDF in Versuch V2-1 in Abhängigkeit der Enzymzulage (K, R2 und R3)

Behandlung	Tier	OM	XF	NDF
K	1	72,5	60,4	61,3
	2	72,0	61,9	60,1
	3	71,0	61,8	59,1
	4	70,6	59,3	57,8
	5	76,6	67,5	63,3
	6	76,9	68,3	65,6
R2	1	72,6	66,3	63,8
	2	73,2	62,0	61,9
	3	71,1	58,0	58,6
	4	73,4	64,7	61,9
	5	78,0	70,4	67,5
	6	75,0	64,6	63,7
R3	1	70,8	62,1	57,3
	2	71,9	62,8	57,6
	3	72,8	64,6	63,6
	4	71,2	60,6	57,3
	5	76,3	67,9	64,2
	6	77,1	68,3	66,3

Pansenphysiologische Parameter**A 38: pH-Werte der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A2, C2 und R3) und Entnahmezeit**

Behandlung	Tier	Entnahmezeit							
		7:00	7:30	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00
K	1	7,17	6,70	6,67	6,73	6,79	6,73	6,82	6,83
	2	6,94	6,69	6,59	6,72	6,66	6,68	6,70	6,73
	3	6,79	6,15	6,47	6,48	6,37	6,49	6,39	6,55
A2	1	6,78	6,14	6,35	6,31	6,43	6,36	6,55	6,56
	2	7,09	6,36	6,45	6,55	6,52	6,57	6,57	6,72
	3	7,01	6,49	6,43	6,39	6,36	6,50	6,53	6,57
C2	1	6,87	6,46	6,44	6,49	6,54	6,48	6,47	6,51
	2	6,99	6,40	6,41	6,46	6,41	6,59	6,57	6,57
	3	6,65	6,22	6,50	6,41	6,45	6,56	6,63	6,81
R3	1	7,09	6,56	6,42	6,54	6,54	6,69	6,62	6,70
	2	7,03	6,60	6,56	6,74	6,58	6,70	6,81	6,69
	3	7,12	6,58	6,64	6,74	6,74	6,70	6,74	6,75

A 39: pH-Werte im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Entnahmezeit

Behandlung	Tier	Entnahmezeit							
		7:00	7:30	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00
K	1	6,88	6,58	6,73	6,79	6,73	6,72	6,79	6,79
	2	7,25	6,71	6,76	6,88	6,82	6,89	6,86	6,95
	3	7,10	6,69	6,70	6,70	6,67	6,77	6,84	6,92
	4	6,95	6,67	6,74	6,81	6,78	6,83	6,94	6,85
	5	7,01	6,74	6,70	6,78	6,78	6,86	6,86	6,84
	6	6,78	6,59	6,55	6,62	6,61	6,70	6,79	6,74
R2	1	7,17	6,63	6,63	6,67	6,66	6,67	6,69	6,81
	2	6,80	6,21	6,44	6,43	6,58	6,59	6,62	6,66
	3	7,06	6,84	6,78	6,69	6,78	6,81	6,96	6,87
	4	6,95	6,62	6,75	6,74	6,65	6,77	6,74	6,95
	5	6,96	6,62	6,61	6,75	6,69	6,80	6,83	6,88
	6	7,13	6,70	6,70	6,86	6,79	6,85	6,87	6,86
R3	1	7,07	6,75	6,70	6,35	6,79	6,94	6,87	6,82
	2	7,05	6,52	6,56	6,69	6,71	6,68	6,63	6,75
	3	7,02	6,71	6,76	6,76	6,78	6,91	6,87	6,90
	4	7,17	6,79	6,97	6,87	6,94	7,08	7,01	6,99
	5	7,06	6,50	6,54	6,54	6,56	6,64	6,76	6,75
	6	6,90	6,50	6,57	6,64	6,66	6,76	6,70	6,82

A 40: NH₃-N-Gehalte (mg/ 100 ml) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A2, C2 und R3) und Entnahmezeit

Behandlung	Tier	Entnahmezeit							
		7:00	7:30	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00
K	1	6,53	10,5	13,5	12,8	11,0	7,70	7,00	4,20
	2	8,87	21,5	17,7	19,6	17,0	12,4	6,77	7,93
	3	9,33	13,5	18,7	17,5	19,4	18,7	10,5	8,40
A2	1	9,10	15,6	14,0	14,5	11,7	6,77	5,60	2,80
	2	8,87	16,5	13,5	17,7	11,2	9,80	9,33	4,43
	3	7,47	15,9	19,4	17,0	14,0	9,57	7,00	5,60
C2	1	8,65	15,4	18,0	11,7	13,8	10,5	6,07	4,20
	2	7,93	14,9	18,4	19,1	13,0	10,3	6,53	4,20
	3	11,2	21,0	18,9	19,8	17,3	14,5	9,33	11,2
R3	1	6,07	7,00	10,5	17,3	11,9	9,80	5,25	4,67
	2	5,60	10,5	16,8	14,5	12,6	11,4	7,70	4,55
	3	7,23	14,5	17,7	18,2	13,5	9,10	8,87	10,3

A 41: NH₃-N-Gehalte (mg/ 100 ml) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Entnahmezeit

Behandlung	Tier	Entnahmezeit							
		7:00	7:30	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00
K	1	6,67	11,4	12,1	11,2	11,2	5,60	9,55	4,45
	2	7,74	15,3	16,1	12,1	12,1	10,0	6,34	4,69
	3	8,17	14,5	12,8	12,1	10,0	12,6	5,13	11,7
	4	8,17	12,6	13,1	9,80	7,00	5,13	3,03	5,60
	5	8,40	13,8	17,7	11,2	9,33	8,63	3,85	4,43
	6	7,23	11,2	13,1	11,7	6,30	6,77	4,67	3,73
R2	1	11,7	21,0	18,9	16,3	12,8	9,80	8,65	6,75
	2	6,34	11,1	17,5	11,0	8,65	13,8	4,69	12,1
	3	8,63	12,6	13,5	12,4	11,0	7,70	10,0	7,00
	4	8,40	10,5	13,1	11,9	8,40	4,43	8,17	4,43
	5	5,13	8,63	13,1	11,0	7,00	6,86	4,90	4,20
	6	7,00	14,2	16,3	13,3	8,17	5,60	4,67	3,97
R3	1	6,42	14,5	14,2	16,1	11,9	10,5	4,45	7,00
	2	7,58	10,4	14,7	16,8	8,89	13,3	7,00	8,89
	3	7,00	11,0	9,10	8,40	6,22	11,9	2,80	5,83
	4	7,70	13,1	13,8	10,0	8,40	7,93	7,93	7,47
	5	8,40	13,8	16,3	13,8	8,75	7,23	7,35	6,07
	6	7,84	13,8	14,5	13,1	7,93	6,53	5,60	3,50

A 42: Konzentrationen an Essig-, Propion- und Buttersäure (mmol/ l) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V1-2 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, A2, C2 und R3) und Entnahmezeit

	Behandlung	Tier	Entnahmezeit							
			7:00	7:30	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00
Essigsäure	K	1	33,3	41,7	45,0	43,3	45,0	45,0	55,0	51,6
		2	51,6	53,3	60,0	58,3	56,6	56,6	60,0	55,0
		3	45,0	50,0	58,3	48,3	55,0	55,0	50,0	46,6
	A2	1	38,3	50,0	61,6	58,3	53,3	46,6	46,6	43,3
		2	50,0	61,6	66,6	65,0	58,3	56,6	48,3	50,0
		3	38,3	46,6	58,3	50,0	46,6	45,0	43,3	46,6
	C2	1	41,7	53,3	56,6	58,3	51,6	51,6	50,0	48,3
		2	46,6	55,0	56,6	58,3	55,0	51,6	55,0	48,3
		3	50,0	56,6	56,6	56,6	56,6	50,0	53,3	60,0
	R3	1	41,7	46,6	53,3	51,6	43,3	38,3	35,0	35,0
		2	30,0	36,7	40,0	26,7	38,3	40,0	38,3	36,7
		3	36,7	43,3	46,6	36,7	46,6	45,0	41,7	40,0
Propionsäure	K	1	6,75	10,8	10,8	14,8	13,5	13,5	13,5	12,1
		2	12,1	12,1	22,9	20,2	17,5	14,8	14,8	13,5
		3	9,45	13,5	20,2	14,8	16,2	14,8	13,5	10,8
	A2	1	6,75	1,35	20,2	18,9	14,8	10,8	10,8	9,45
		2	12,1	16,2	18,9	18,9	16,2	13,5	12,1	12,1
		3	6,75	12,1	20,2	16,2	13,5	12,1	12,1	10,8
	C2	1	8,10	12,1	16,2	17,5	13,5	12,1	12,1	10,8
		2	10,8	12,1	17,5	18,9	16,2	13,5	13,5	12,1
		3	10,8	13,5	18,9	18,9	17,5	13,5	12,1	16,2
	R3	1	9,45	13,5	18,9	17,5	12,1	9,45	9,45	8,10
		2	5,40	8,10	13,5	8,10	10,8	12,1	10,8	10,8
		3	8,10	12,1	17,5	12,1	13,5	10,8	9,45	8,10
Buttersäure	K	1	3,40	5,67	6,81	7,94	7,94	7,94	9,08	7,94
		2	9,08	7,94	10,21	11,3	11,3	10,2	11,3	11,3
		3	7,94	9,08	11,3	15,9	18,2	19,3	18,2	17,0
	A2	1	4,54	5,67	9,08	9,08	9,08	7,94	10,2	9,08
		2	6,81	9,08	9,08	11,35	10,2	9,08	9,08	9,08
		3	4,54	7,94	9,08	9,08	7,94	7,94	7,94	7,94
	C2	1	4,54	7,94	7,94	10,2	9,08	9,08	9,08	9,08
		2	7,94	9,08	11,3	11,3	10,2	10,2	10,2	9,08
		3	10,2	10,2	11,3	14,8	12,5	11,3	11,3	14,8
	R3	1	6,81	9,08	11,3	11,3	9,08	7,94	7,94	7,94
		2	3,40	4,54	5,67	3,40	5,67	9,08	7,94	7,94
		3	5,67	7,94	10,2	9,08	11,3	10,2	10,2	9,08

A 43: Konzentrationen an Essig- und Propionsäure (mmol/ l) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Entnahmezeit

	Behandlung	Tier	Entnahmezeit							
			7:00	7:30	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00
Essigsäure	K	1	36,7	45,0	53,3	46,6	45,0	41,7	45,0	38,3
		2	43,3	46,6	55,0	51,6	45,0	48,3	43,3	45,0
		3	51,6	55,0	51,6	48,3	43,3	43,3	40,0	41,7
		4	43,3	48,3	51,6	50,0	38,3	38,3	36,7	41,7
		5	51,6	53,3	58,3	55,0	51,6	51,6	50,0	48,3
		6	41,7	41,7	50,0	50,0	41,7	41,7	43,3	43,3
	R2	1	50,0	63,3	61,6	65,0	56,6	55,0	50,0	48,3
		2	40,0	48,3	56,6	53,3	50,0	48,3	48,3	45,0
		3	45,0	46,6	43,3	48,3	51,6	46,6	41,7	41,7
		4	33,3	41,7	45,0	41,7	41,7	41,7	38,3	46,6
		5	38,3	38,3	43,3	40,0	46,6	43,3	41,7	41,7
		6	45,0	51,6	56,6	51,6	51,6	48,3	45,0	43,3
	R3	1	45,0	48,3	53,3	48,3	51,6	50,0	50,0	46,6
		2	43,3	45,0	48,3	61,6	43,3	43,3	40,0	43,3
		3	40,0	43,3	38,3	43,3	41,7	41,7	40,0	40,0
		4	45,0	53,3	53,3	45,0	43,3	43,3	43,3	40,0
		5	41,7	51,6	51,6	56,6	53,3	51,6	51,6	45,0
		6	38,3	46,6	48,3	36,7	40,0	40,0	41,7	50,0
Propionsäure	K	1	10,8	14,8	16,2	13,5	10,8	9,45	9,45	8,10
		2	8,10	12,1	18,9	13,5	10,8	10,8	9,45	9,45
		3	9,45	16,2	13,5	12,1	9,45	9,45	8,10	8,10
		4	8,10	13,5	16,2	13,5	9,45	8,10	6,75	9,45
		5	12,1	18,9	20,2	16,2	13,5	13,5	12,1	10,8
		6	8,10	12,1	16,2	13,5	10,8	9,45	9,45	8,10
	R2	1	10,8	20,2	18,9	17,5	14,8	13,5	12,1	10,8
		2	8,10	17,5	18,9	14,8	13,5	12,1	10,8	9,45
		3	9,45	14,8	14,8	13,5	13,5	10,8	9,45	9,45
		4	6,75	13,5	13,5	12,1	10,8	10,8	9,45	10,8
		5	8,10	13,5	17,5	12,1	14,8	13,5	12,1	10,8
		6	9,45	18,9	20,2	14,8	13,5	12,1	9,45	8,10
	R3	1	8,10	12,1	18,9	13,5	14,8	12,1	10,8	9,45
		2	8,10	13,5	16,2	17,5	10,8	12,1	9,45	9,45
		3	6,75	13,5	16,2	14,8	12,1	10,8	9,45	9,45
		4	8,10	16,2	14,8	10,8	9,45	8,10	8,10	6,75
		5	6,75	16,2	16,2	17,5	14,8	13,5	13,5	10,8
		6	8,10	16,2	18,9	12,1	12,1	12,1	10,8	12,1

A 44: Buttersäurekonzentrationen (mmol/ l) im Pansensaft der Versuchstiere aus Versuch V2-1 in Abhängigkeit von Enzymzulage (K, R2 und R3) und Entnahmezeit

	Behandlung	Tier	Entnahmezeit							
			7:00	7:30	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00
Buttersäure	K	1	7,94	7,94	5,67	5,67	5,67	4,54	5,67	4,54
		2	4,54	4,54	11,3	7,94	6,81	7,94	7,94	7,94
		3	7,94	9,08	7,94	7,94	7,94	7,94	6,81	6,81
		4	5,67	6,81	9,08	9,08	5,67	5,67	4,54	6,81
		5	10,2	11,3	12,5	11,3	9,08	13,6	13,6	12,5
		6	7,94	6,81	11,3	9,08	7,94	6,81	6,81	6,81
	R2	1	10,2	13,6	12,5	13,6	12,5	11,3	11,3	9,08
		2	5,67	6,81	9,08	7,94	9,08	7,94	7,94	6,81
		3	6,81	9,08	9,08	9,08	9,08	9,08	7,94	7,94
		4	4,54	6,81	6,81	7,94	6,81	6,81	6,81	7,94
		5	6,81	7,94	10,2	6,81	10,2	11,3	10,2	10,2
		6	7,94	11,3	13,6	11,3	11,3	10,2	7,94	7,94
	R3	1	6,81	6,81	9,08	7,94	11,3	11,3	11,3	9,08
		2	6,81	7,94	9,08	11,3	7,94	9,08	6,81	7,94
		3	5,67	7,94	9,08	9,08	9,08	9,08	9,08	7,94
		4	5,67	9,08	10,2	7,94	7,94	6,81	6,81	5,67
		5	6,81	10,2	12,5	17,0	15,9	15,9	17,0	13,6
		6	5,67	6,81	10,2	7,94	7,94	9,08	9,08	10,2

Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name: Rudolf Eisenreich
Geburtsdatum: 11.01.1979
Geburtsort: München
Familienstand: ledig

Schulbildung

1985 – 1989 Grundschule Ritter-Tuschl, Vilshofen
1989 – 1995 Gymnasium Schweiklberg, Vilshofen
1995 – 1998 Gymnasium Vilshofen

Hochschulausbildung

1999 – 2005 Studium der Agrarwissenschaften an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan
Schwerpunkt: Tierproduktion

10/2004 Abschluss Bachelor of Science
04/2005 Abschluss Diplom-Agraringenieur

2005 – dato Promotion am Department für Tierwissenschaften, Bereich Tierernährung der Technischen Universität München