

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Einfluss einer Supplementation von Nicht-Stärke-Polysaccharid-hydrolysierenden
Enzymen und einer α -Amylase auf einige Leistungsparameter bei Milchkühen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Wenning
Tierarzt aus Gronau/Westf.

Berlin 2008
Journal-Nr. 3202

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. H. Martens
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. O. Simon
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. R. Staufenberg

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

dairy cows, feed supplements, enzymes, alpha amylase, cellulose,
dairy performance, milk composition, body condition, energy balance

Tag der Promotion: 23.04.2008

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN-10: 3-86664-390-X

ISBN-13: 978-3-86664-390-1

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008
D188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten

© mbv 2008

nordendstr. 75 - 13156 berlin – 030-45494866
verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 Definition der Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP).....	3
2.2 Allgemeine Definition von Enzymen und ihre Bedeutung beim NSP-Abbau	4
2.3 Die biotechnologische Produktion von Enzymen.....	5
2.4 Einsatz von NSP-hydrolysierenden Enzymen als Futterzusatzstoffe bei Mastgefügel und Ferkeln.....	5
2.5 Die Verdauung im Pansen bei Wiederkäuern.....	6
2.5.1 Im Pansen vorkommende Mikroorganismen	6
2.5.2 Mikrobielle und enzymatische Verdauungsvorgänge.....	7
2.6 Verdauung von Kraftfutter im Pansen	9
2.7 Funktionsweise von supplementierten Enzymen bei Wiederkäuern	10
2.7.1 Enzym-Wirkungen vor der Fütterung	11
2.7.2 Enzym-Wirkungen im Pansen.....	12
2.7.2.1 Verbesserte Kolonisierung mit Mikroorganismen	13
2.7.2.2 Förderung von mikrobiellen Populationen	14
2.7.2.3 Stimulierung endogener Enzyme.....	15
2.7.2.4 Zusammenfassung der ruminalen Effekte	15
2.7.3 Einfluss exogener Enzyme auf die post-ruminale Verdauung	16
2.8 Bisheriger Einsatz von exogenen Enzymen bei Wiederkäuern	16
2.8.1 Schafe	17
2.8.2 Mastrinder.....	18
2.8.3 Laktierende Kühe.....	21
2.8.3.1 Die Applikationsdosis	23
2.8.3.2 Das Laktationsstadium	24
2.8.3.3 Zusammenfassung: Einsatz exogener Enzyme bei Milchkühen	25
2.9 Mögliche Einflussfaktoren beim Einsatz exogener Enzyme	26
2.9.1 Art der Applikation	26
2.9.2 Die Applikationsmenge	27
2.9.3 Zeitpunkt der Applikation	28
2.9.4 Abstimmung von Enzymaktivitäten auf die Rationszusammensetzung ..	29
2.9.5 Feuchtegehalt der Substrate	30
2.9.6 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	30

3	MATERIAL UND METHODEN	33
3.1	Versuchstiere, Haltung und Fütterung.....	33
3.2	Verwendete Enzyme, Dosierung und Applikation.....	38
3.2.1	Beschreibung der Enzyme.....	38
3.2.2	Lagerung, Aufbereitung und Dosierung der Enzyme	39
3.2.3	Applikation der Enzymlösungen.....	40
3.2.4	Beginn und Dauer der Enzymsupplementierung	40
3.3	Messung der täglichen Milchmenge und Milchinhaltsstoffe	40
3.4	Messung der Rückenfettdicke (RFD)	41
3.5	Probenentnahme, -aufbereitung und -verwahrung.....	41
3.6	Bestimmungsmethoden der klinisch-chemischen Parameter.....	42
3.7	Fruchtbarkeitskennzahlen	43
3.8	Inzidenz ausgewählter Krankheiten	43
3.9	Bestimmung der Futteraufnahme.....	43
3.10	Biostatistische Auswertung.....	43
4	ERGEBNISSE.....	45
4.1	Milchleistung der Tiere im Versuchszeitraum.....	45
4.2	Zusammensetzung der Milchinhaltsstoffe (MLP).....	50
4.2.1	Melktage	51
4.2.2	Milch-Menge	52
4.2.3	Milch-Fettgehalt	52
4.2.4	Milch-Protein-Gehalt	53
4.2.5	Milch-Harnstoff-Gehalt.....	53
4.2.6	Zell-Zahl-Gehalt der Milch	54
4.2.7	Laktose-Gehalt der Milch.....	54
4.3	Rückenfettdicke (RFD)	55
4.4	Blutparameter	58
4.4.1	Bilirubin	58
4.4.2	Cholesterol	59
4.4.3	Harnstoff	60
4.4.4	AST (Aspartat-Amino-Transferase)	61
4.4.5	β -OH-Butyrat	61
4.4.6	Non-Esterified-Fatty-Acids (NEFA).....	62
4.5	Fruchtbarkeitskennzahlen	63
4.5.1	Nachgeburtverhaltung (NGV).....	64
4.5.2	Weitere Fruchtbarkeitskennzahlen	64
4.6	Inzidenz ausgewählter Krankheitskomplexe.....	65

4.6.1	Gebärparese.....	65
4.6.2	Labmagenverlagerung (LMV).....	66
4.6.3	Mastitis	66
4.7	Bestimmung der Menge des vorgelegten Futters.....	67
4.8	Weitere Untersuchungen zum Verlauf der Körperkondition (unabhängig von der Supplementation exogener Enzyme).....	67
5	DISKUSSION.....	73
5.1	Bewertung der Versuchsparameter	74
5.1.1	Milchleistung.....	74
5.1.2	Daten der Milchleistungsprüfungen (MLP).....	75
5.2	Rückenfettdicke	77
5.3	Blutparameter	78
5.3.1	Energie- und Fettstoffwechsel	78
5.3.2	Eiweißstoffwechsel	79
5.3.3	Leberfunktionsparameter.....	80
5.3.4	Zusammenfassung und Beurteilung der Blutparameter-Analyse.....	80
5.4	Fruchtbarkeitsparameter.....	80
5.4.1	Nachgeburtsverhaltung (NGV).....	80
5.4.2	Weitere Fruchtbarkeitsparameter	81
5.5	Auswertung der Fütterung.....	82
5.6	Mögliche Erklärungen für die beobachteten Effekte	83
5.7	Inzidenz ausgewählter Krankheitskomplexe.....	85
5.7.1	Gebärparese (Milchfieber).....	85
5.7.2	Labmagenverlagerung (Dislocatio abomasi, LMV).....	86
5.7.3	Euterentzündung (Mastitis).....	86
5.8	Weitere Untersuchungen zum Verlauf der Körperkondition.....	88
5.9	Schlussfolgerungen zum Einsatz von exogenen Enzymen bei Hochleistungs-Milchkühen	92
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	93
7	SUMMARY.....	95
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	97
	DANKSAGUNG	121
	SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG.....	123

Abkürzungsverzeichnis:

a.p.	<i>ante partum</i> [lat.]; vor der Geburt
Abb.	Abbildung
ADF	<i>acid detergent fiber</i> [engl.]; Säure-Detergenzien-Faser
AST	Aspartat-Aminotransferase
BCS	Body Condition Score
BFT	<i>back fat thickness</i> [engl.]; Rückenfettdicke
BHB	β-Hydroxy-Butyrat
BHV	Bovines Herpersvirus
bzw.	beziehungsweise
ca.	<i>circa</i> [lat.]; ungefähr
Ca	chemisches Symbol für Calcium
Cl	chemisches Symbol für Chlorid
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
d	<i>day</i> [engl.]; Tag, Zeiteinheit
d.h.	das heißt
DCAB	<i>dietary cation anion balance</i> [engl.]; Kationen-Anionen Bilanz
EGU	<i>endoglucanase unit</i> [engl.]; Endoglucanase Einheit
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> [lat.]; und andere
Fa.	Firma
FCM	<i>Fat Corrected Milk</i> [engl.]; Fett-korrigierte Milch
FS	Fettsäuren
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
g	Gramm, Masseinheit
GnRH	Gonadotropin-Releasing Hormon
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor-1</i> [engl.]; insulinähnlicher Wachstumsfaktor-1
K	chemisches Symbol für Kalium
kB	künstliche Besamung
kg	Kilogramm, Masseneinheit (1×10^3 g)
KM	Körpermasse
KNU	Kilo-Novo-Unit
l	Liter, Volumeneinheit
LH	Luteinisierendes Hormon
LMV	Labmagenverlagerung

ME	<i>Metabolizable energy</i> [engl.]; umsetzbare Energie
Mg	chemisches Symbol für Magnesium
ml	Milliliter, Volumeneinheit (1×10^{-3} l)
mmol	Millimol, Stoffmengeneinheit (1×10^{-3} mol)
mol	Mol, Stoffmengeneinheit ($6,0221415 \times 10^{23}$ Teilchen)
MT	Melktag
MVA	Milchviehanlage
Na	chemisches Symbol für Natrium
NDF	<i>neutral detergent fiber</i> [engl.]; Neutral-Detergenzien-Faser
NEFA	<i>Non-Esterified-Fatty-Acids</i> [engl.]; nicht veresterte Fettsäuren
NEL	Nettoenergie Laktation
NSP	Nicht-Stärke-Polysaccharide
p	Symbol für Irrtumswahrscheinlichkeit, Infimum des Signifikanzniveaus
P	chemisches Symbol für Phosphat
p. p.	<i>post partum</i> [lat.]; nach der Geburt
RFD	Rückenfettdicke
RP	Rohprotein
S	chemisches Symbol für Schwefel
S.	Seite
s.	siehe
SD	<i>standard deviation</i> [engl.]; Standardabweichung
S.E.M.	<i>standard error of the mean</i> [engl.]; Standardfehler des Mittelwertes
Tab.	Tabelle
TM	Trockenmasse
TMR	totale Mischration
TPP	Tage post partum
TS	Trockensubstanz
u.	und
u.a.	unter anderem
u.U.	unter Umständen
VK S	Variationskoeffizient in der Serie
VK T	Variationskoeffizient von Tag zu Tag
ZTZ	Zwischentragezeit (Güstzeit)
z.B.	zum Beispiel
α	griech. Buchstabe <i>alpha</i>
β	griech. Buchstabe <i>beta</i>
μ	griech. Buchstabe <i>my</i> , Präfix für Mikro- (1×10^{-6})

1. Einleitung

Mikrobielle Futterenzyme werden weltweit erfolgreich bei monogastrischen landwirtschaftlichen Nutztieren zur Erhöhung der Verdaulichkeit eingesetzt. Insbesondere bei Mastgeflügel und Mastschweinen werden Nicht-Stärke-Polysaccharid (NSP)-hydrolysierende Enzyme eingesetzt, um antinutritive Effekte der NSP (erhöhte Viskosität der Digesta, reduzierte Absorption von Nährstoffen) zu verringern, sowie eine bessere Ausnutzung von sonst nicht oder nur schlecht verwertbaren Futterbestandteilen zu ermöglichen (Annison, 1992; Bakker *et al.*, 1998; Barrera *et al.*, 2004; Böhme, 1996; Chesson, 1993a). Daraus ergeben sich zum einen ökonomische Vorteile (kostengünstiger Einsatz von Nebenerzeugnissen aus der Futter- und Lebensmittelproduktion) und zum anderen positive ökologische Effekte durch eine verringerte Ausscheidung von Kot (Knowlton *et al.*, 2007).

Die Gründe für eine positive Wirkung eingesetzter Futterenzyme sind beim Schwein teilweise bekannt; die Auswirkungen auf die mikrobielle Besiedlung im Verdauungstrakt sind bei dieser Tierart von entscheidender Bedeutung (Simon *et al.*, 2002). Beim Mastgeflügel macht man hauptsächlich die Viskositätssenkung der Digesta für den leistungssteigernden Effekt der Enzyme verantwortlich. Dies wiederum spielt beim Schwein eine untergeordnete Rolle (Haberer und Schulz, 1998).

Der Einsatz von NSP-hydrolysierenden Enzymen bzw. einer Amylase bei Wiederkäuern scheint auf den ersten Blick wenig Erfolg versprechend, da der Pansen an sich mit den in ihm lebenden Mikroorganismen eine große hydrolytische Kapazität besitzt und zugesetzte Enzyme u.U. schnell inaktiviert werden könnten (Chesson, 1993a).

Erste Versuche mit Wiederkäuern wurden in den 1960er Jahren durchgeführt (Burroughs *et al.*, 1960; Clark *et al.*, 1961; Perry *et al.*, 1966; Rovics und Ely, 1962; Rust *et al.*, 1965; Van Walleggem *et al.*, 1964). Dabei waren positive Effekte nachweisbar; jedoch zeigten einige Studien keine Auswirkungen oder sogar negative Effekte einer Enzymsupplementierung (Burroughs *et al.*, 1960; Perry *et al.*, 1966; Theurer *et al.*, 1963). Dabei muss erwähnt werden, dass die Beschreibungen der Enzyme bezüglich Aktivität und Dosierung in Studien jener Zeit recht ungenau sind und so ein Vergleich mit aktuellen Untersuchungsergebnissen schwierig erscheint. Aufgrund der hohen Produktionskosten mikrobieller Enzyme im Vergleich zu anderen Futterzusatzstoffen wurden die Bemühungen der Entwicklung geeigneter Enzympräparate für Wiederkäuer zunächst unterbrochen. Aufgrund von Fortschritten und Kostenreduktion in der Biotechnologie besteht seit einigen Jahren ein aktuelles Interesse am Einsatz von NSP-hydrolysierenden Enzymen bei Wiederkäuern (Clarkson *et al.*, 2001).

Mittlerweile liegen neuere Studien vor, die positive Wirkungen auf Leistungen von Wiederkäuern aufzeigen (Beauchemin und Rode, 1996; Yang, W. Z. *et al.*, 1999). Hier sind insbesondere eine höhere Milchproduktion (Lewis, G. E. *et al.*, 1999; Stokes, 1992), eine größere Zunahme an Körpermasse (Beauchemin *et al.*, 1995) und eine höhere Futteraufnahme (Lewis, G. E. *et al.*, 1996) zu nennen.

Aufgrund der inkonstanten Resultate bei Versuchen mit Futterenzymen bei Wiederkäuern besteht ein aktuelles Forschungsinteresse, um die Entwicklung geeigneter Präparate für Wiederkäuer voran zu treiben. Die möglichen Faktoren für die variablen Ergebnisse beim Vergleich unterschiedlicher Studien sind zahlreich: Zusammensetzung der Ration, verwendete Enzymaktivitäten und Stabilität der eingesetzten Zusatzstoffe, Applikationsart und –zeitpunkt sowie der Energie-Status der Tiere.

Ziel dieser Dissertation ist es, die Auswirkungen der zwei kommerziellen Enzyme „Amylase“ und „Cellulase“ (Firmen Novozymes und DSM Nutritional Products) unter Praxisbedingungen auf einer Milchviehanlage bei 416 laktierenden Hochleistungskühen zu untersuchen. Als Leistungsparameter wurden die tägliche Milchmenge, Milchhaltsstoffe, die Rückenfettdicke (RFD), einige Blutparameter, die Fruchtbarkeitskennzahlen sowie die Krankheitsinzidenz herangezogen, um auftretende positive oder negative Effekte einer Enzymsupplementierung zu beschreiben. Dabei erhielten 209 Tiere die Futterenzyme, während 207 Färsen und Kühe als Kontrollgruppe fungierten.

2 Literaturübersicht

2.1 Definition der Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP)

Als Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP) werden die Polysaccharide zusammengefasst, die in pflanzlichen Zellwänden vorkommen (hauptsächlich „Gerüstsubstanzen“) und über den Verdauungstrakt der Monogastrier nicht abgebaut werden können (Jeroch *et al.*, 1999).

Nicht-Stärke-Polysaccharide machen etwa 700-900 g/kg der pflanzlichen Zellwand aus (Bach Knudsen, 2001). Derartige Angaben schwanken je nach Sorte, Herkunft, Reifestadium und Klima (Bach Knudsen, 1997; Dusel *et al.*, 1997; Steinfeldt, 2003).

Eine Übersicht über die Gruppe der NSP bietet folgende **Abb. 1**

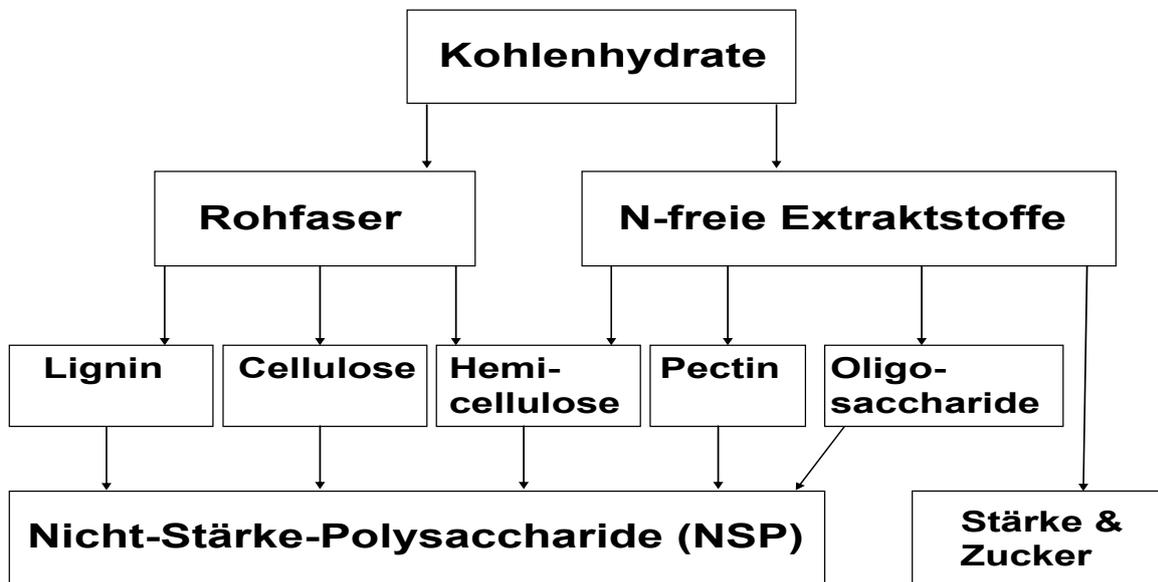


Abbildung 1 Klassifikation der Kohlenhydrate nach Bakker *et al.* (1998)

Bezüglich ihrer chemischen Struktur repräsentieren die NSP eine heterogene Gruppe: Zu ihnen zählen Cellulose, (1-3, 1-4)- β -Glucane, Arabinoxylane (Pentosane), Mannane, Galactane, Xyloglucane und Pectine (Jeroch *et al.*, 1999). Eine allgemeingültige und einheitliche Klassifikation der Nicht-Stärke-Polysaccharide ist bisher nicht erfolgt (Choct, 1997; DeVries *et al.*, 1999; Pluske *et al.*, 1999; Wenk, 2001; Wenk und Zurcher, 1990), so dass die bisherigen Definitionen stets einen Kompromiss darstellen, um die komplexe Gruppe der NSP zu charakterisieren.

Pflanzliche Zellwände bestehen zu 24 – 36% aus Cellulose, zu 8 – 38% aus Hemicellulose und zu 4 – 8% aus Lignin (Malburg *et al.*, 1992).

Cellulose stellt ein hochmolekulares Glucosepolymer aus Cellobiose-Untereinheiten dar, die aus einzelnen Glucosemolekülen in β -D-1,4-glykosidischen Bindungen miteinander verknüpft

sind. Cellulose ist ein Hauptbestandteil der sekundären pflanzlichen Zellwand und für ihre Festigkeit und Zähigkeit verantwortlich.

Die *Hemicellulosen* sind Mischpolymere mit einem hohen Gehalt an Xylose sowie L-Arabinose, D-Galactose, D-Gucuronsäure und 4-O-Methyl-Glucuronsäure. Sie können über Wasserstoffbrücken mit Cellulose verbunden sein. Die Hemicellulosen sind wichtig für die Flexibilität und Plastizität der pflanzlichen Zellwand.

Lignin wird in allen Zellwandschichten mit zunehmendem Alter der Pflanzen eingelagert und ist ein Mischpolymer, bestehend aus Phenylpropanverbindungen, Coniferyl-, p-Cumaryl- und Sinapylalkohol. Lignin besitzt von allen Zellwandbestandteilen die geringste mikrobielle Abbaubarkeit (Breves und Leonhardt-Marek, 2005).

2.2 Allgemeine Definition von Enzymen und ihre Bedeutung beim NSP-Abbau

Enzyme sind Eiweißstoffe mit katalytischen Eigenschaften. Ein Katalysator wiederum ist ein organischer oder anorganischer Stoff, der das Erreichen des Gleichgewichts einer chemischen Reaktion beschleunigt, ohne dessen Lage zu verändern (Kolb, 2000).

Die Einteilung der Enzyme erfolgt nach Art der katalysierten Reaktion; Hauptgruppen sind Oxidoreduktasen (spalten H_2 von organischen Verbindungen ab oder lagern H_2 oder O_2 an), Transferasen (übertragen bestimmte chemische Gruppen), Hydrolasen (spalten Substrate unter Aufnahme von Wasser), Lyasen (spalten Bindungen zwischen C-Atomen bzw. spalten H_2O ab oder lagern es an) und Ligasen (verbinden Moleküle miteinander) (Kolb, 2000).

Die Enzymaktivität hängt von den Konzentrationen des Enzyms und des Substrates ab. Des Weiteren vom Vorhandensein von Inhibitoren, die sich mit dem Enzym bzw. dem Enzym-Substrat-Komplex verbinden können, und von Umweltfaktoren wie Temperatur und pH-Wert (McDonald, 2002).

Mikroorganismen wie Bakterien und Pilze produzieren eine Reihe von Enzymen, die es ihnen ermöglichen, sich mit verschiedenen Umweltbedingungen auseinander zu setzen und verschiedene Energiesubstrate für Wachstum und Fortpflanzung zu nutzen.

Es gibt drei Hauptgruppen von Enzymen, die Mikroorganismen nutzen, um *Cellulose* abzubauen: Endo-1,4- β -D-Glucanasen, Exo-1,4- β -D-Glucanasen und β -Glucosidasen. Gemeinsam werden diese Enzyme als *Cellulasen* bezeichnet (Bhat und Bhat, 1997; Bhat, und Hazlewood, 2001; Walker und Wilson, 1991).

Der Abbau von *Hemicellulose* bedarf einer größeren Anzahl von Enzymen aufgrund einer größeren Anzahl von Seitenketten im Molekül. Hierzu zählen Endo- und Exoxylasanen, β -1,4-Xylosidase, α -L-Arabinofurosidase, α -Glucuronidase und O-Acetylxylanesterase (Bhat und Hazlewood, 2001; Malburg *et al.*, 1992; White *et al.*, 1993).

Stärke ist in vielen Pflanzen das Hauptspeicherpolysaccharid, und viele Mikroorganismen bilden α -Amylase, Glucoamylase und α -Glucosidase, um Stärke in seine Untereinheiten

(Oligo- und Disaccharide, Glucose) abzubauen (Antranikian, 1992). Danach erfolgt eine weitere Metabolisierung der aus Hydrolyse entstandenen Zucker über Pyruvat zu Succinat, Acetat, Butyrat, Propionat, CO₂ und H₂. Pyruvat ist das zentrale Intermediärprodukt des mikrobiellen Kohlenhydratstoffwechsels, jedoch ist es aufgrund einer hohen Umsatzgeschwindigkeit in Richtung der kurzkettigen Fettsäuren und der Pansengase in der Pansenflüssigkeit praktisch nicht nachweisbar.

2.3 Die biotechnologische Produktion von Enzymen

Biotechnologisch hergestellte Enzyme der Spezies *Trichoderma*, *Aspergillus* und *Bacillus* werden intensiv in unterschiedlichen Zweigen der Wirtschaft genutzt, wie in der Papier-, Textil- und Lebensmittelindustrie (Bhat und Bhat, 1997; Bhat und Hazlewood, 2001). In Zukunft wäre auch eine Produktion solcher Enzyme über transgenes Saatgut denkbar, wie es Patel *et al.* (2000) im Endosperm von Gerstenkörnern beschreiben.

Enzyme als Futterzusatzstoffe sind in der Regel extrazelluläre Hydrolasen. Die Produktionsschritte sind von Clarkson *et al.* (2001) detailliert umrissen worden. Zu ihnen zählen das Untersuchen von Mikroorganismen auf die gewünschten Enzyme, die Selektion eines passenden Produktionsorganismus, die Entwicklung und praktische Anwendung eines geeigneten Fermentationsprozesses, das Gewinnen und die Anreicherung des gewünschten Enzyms und schließlich die Stabilisierung des Enzyms, um Proteolyse und den Zusatz von antimikrobiellen Zusatzstoffen zu minimieren. Am Ende dieser Kette steht dann das kommerzielle Produkt.

Da die Erstellung einer Enzym-Reinform mit hohen Kosten verbunden ist, sind Enzymprodukte als Futterzusatzstoffe für landwirtschaftliche Nutztiere oft Formulierungen, die eine Reihe von Enzymaktivitäten beinhalten. Dies kann zwar einen Einsatz in unterschiedlichen Fütterungssituationen bedeuten, aber es bereitet auch Schwierigkeiten bei der genauen Beschreibung eines Produktes und beim Vergleich von Studienergebnissen.

2.4 Einsatz von NSP-hydrolysierenden Enzymen als Futterzusatzstoffe bei Mastgeflügel und Ferkeln

Bei Mastgeflügel und Ferkeln werden Nicht-Stärke-Polysaccharid spaltende Enzyme mit Xylanase- und β -Glucanase-Aktivitäten eingesetzt. In Rationen, die reich an Gerste und Hafer sind, kommen vor allem β -Glucanasen zum Einsatz (Graham *et al.*, 1989), bei solchen, die in erster Linie Roggen enthalten, werden vor allem Xylanasen oder Multienzympräparate eingesetzt (Haberer *et al.*, 1998).

Die Effekte eines Einsatzes exogener Enzyme liegen in einer größeren Lebendmassezunahme bei geringerem Futteraufwand sowie einem verminderten Auftreten klebriger Exkreme (Annison, 1992). Ziel der Supplementierung ist somit die Herabsetzung

der durch die NSP hervorgerufenen antinutritiven Effekte wie eine Steigerung der Viskosität des Chymus. Eine Viskositätszunahme hat zur Folge, dass körpereigene Verdauungsenzyme und Gallensäuren eine verminderte Diffusionsrate aufweisen und dass der Nahrungsbrei einen verminderten Kontakt zur resorptiven Magen-Darm-Oberfläche erhält (Bedford, 1995; Förster, 2003; Ikegami *et al.*, 1990).

Beim Geflügel wird hauptsächlich die Viskositätssenkung des Darmchymus für den leistungssteigernden Effekt verantwortlich gemacht; beim Schwein spielt dies anscheinend nur eine kleine Rolle (Haberer und Schulz, 1998). Bei dieser Nutztierspezies ist die Auswirkung einer Enzymsupplementation auf die Mikrobiota von entscheidender Bedeutung für einen leistungssteigernden Effekt (Simon *et al.*, 2002). Dies bedeutet, dass bestimmte Mikroorganismen gefördert und andere wiederum zurückgedrängt werden (durch die Konkurrenz um die zur Verfügung stehenden Nährstoffe).

Eine weitere positive Eigenschaft NSP-hydrolysierender Enzyme besteht in der Aufweichung des so genannten „Käfigeffektes“. Hierbei handelt es sich um die Vorstellung, dass die NSP einen Käfig um Rohnährstoffe bilden und diese so den Nährstoffabbau erschweren oder auch verhindern (Theander *et al.*, 1989).

2.5 Die Verdauung im Pansen bei Wiederkäuern

Der Umfang der Verdauung im Pansen ist eine Funktion aus Futter-Aufschluss- und Passagerate. Diese beiden Faktoren wiederum sind abhängig vom Ausmaß, dem die pflanzlichen Zellwände den mechanischen, mikrobiellen und enzymatischen Einflüssen des Pansenmilieus ausgesetzt sind. Die Möglichkeit zur Kolonisation des Substrates mit Mikroorganismen und der anschließende enzymatische Angriff, bzw. der Widerstand der pflanzlichen Zellwand dagegen sind wichtige Einflussfaktoren.

Die Passagerate wird hauptsächlich beeinflusst durch den Widerstand der Futterpartikel gegenüber einer Zerkleinerung durch den Kauvorgang, dem Wiederkauen und dem mikrobiellen Angriff (Van Soest, 1994).

Eine Optimierung der Verdauungsvorgänge im Pansen stellt einen Kompromiss dar. Die Erhöhung der Verdaulichkeit – indem die Zugänglichkeit des Substrates für Mikroorganismen und Enzyme erhöht wird – steht einer moderaten Passagerate gegenüber.

2.5.1 Im Pansen vorkommende Mikroorganismen

Die im Pansen vorkommenden Mikroorganismen gliedern sich in Bakterien, Protozoen und Pilze. Sie sind in großer Zahl vorhanden (10^{10} – 10^{11} Bakterien, 10^5 – 10^6 Protozoen und 10^3 – 10^4 Pilze pro ml Pansensaft). Bisher sind mehr als 200 Bakterienspezies, 100 Protozoenspezies und 8 Pilzspezies identifiziert worden (McAllister und Cheng, 1996). Es

wird geschätzt, dass 85-95 % der Mikroorganismen mit derzeitigen Methoden nicht kultivierbar sind (Krause *et al.*, 2003).

Die Vormagenbakterien sind für die grundlegenden biochemischen StoffwechsellLeistungen essentiell (Breves und Leonhardt-Marek, 2005). Die meisten bakteriellen Cellulase Systeme sind zellassoziiert; im Vergleich dazu handelt es sich bei Pilzen um extrazellulär sezernierte Enzyme (Gomez de Segura *et al.*, 1994; Malburg *et al.*, 1992; White *et al.*, 1993).

Die Population der Pansenprotozoen macht etwa 40-80 % der mikrobiellen Biomasse aus und ist für etwa 25-30 % des Rohfaser-Abbaus verantwortlich (Jouany und Ushida, 1994). Dabei findet man eine große Bandbreite an fibrolytischen Enzymen (Malburg *et al.*, 1992); ein Teil dieser Enzyme stammt dabei von intrazellulär gelegenen Bakterien (Dehority, 1993). Die in den Vormägen lebenden Pilze machen etwa 8 % der Biomasse aus. Sie bauen eine Reihe von Substraten wie Cellulose, Xylan, Stärke, Protein und Pectin sowie auch stärker lignifizierte Gewebe und Sklerenchymzellen ab (Dehority, 1993; Gomez de Segura *et al.*, 1994; Malburg *et al.*, 1992; McAllister *et al.*, 1993). Außerdem sind die Pilze in der Lage, Läsionen an den Oberflächen pflanzlicher Strukturen hervorzurufen, so dass diese dann leichter zugänglich sind für andere Mikroorganismen (Bauchop, 1979; Gordon und Phillips, 1995).

2.5.2 Mikrobielle und enzymatische Verdauungsvorgänge

Ungefähr 75 % der mikrobiellen Gesamtpopulation des Pansens ist locker oder stark mit Futterpartikeln assoziiert (Martin und Michaletdoreau, 1995; Yang *et al.*, 2001) und für den Großteil der enzymatischen Aktivität (Endoglucanase, Amylase und Protease) im Pansen verantwortlich (McAllister *et al.*, 1994a). Cheng *et al.* (1984), Malburg *et al.* (1992) und McAllister *et al.* (1994a; 1994b) haben folgende Vorgänge als wichtige Schritte der Grundfutterverdauung im Pansen beschrieben: mikrobielle Penetration, Adhäsion und die Formierung eines stabilen „Multi-Spezies-Konsortiums“. Auf die erwähnten Publikationen sowie auf den umfangreichen Review von Krause *et al.* (2003) soll an dieser Stelle für eine ausführlichere Beschreibung der Prozesse und Hindernisse der mikrobiellen Kolonisierung und –Verdauung verwiesen werden.

Physikalische Einschränkungen bzw. Barrieren für eine Kolonisierung mit Mikroorganismen sind die zur Verfügung stehende Oberfläche, die Dichtigkeit der Zellen, die Porosität der Oberfläche sowie Wachs- und Kutikulaschichten (McAllister *et al.*, 1994; Wilson, 1993). Die molekulare Zusammensetzung hat ebenfalls Einfluss auf die Anhaftung von Mikroorganismen. Hier sind die chemischen Bindungen zwischen den Cellulose- und Xylanpolymeren, der Grad der Hydratation, das Ausmaß der Substitution der Xylan-Seitenketten, die Gegenwart von Phenolverbindungen und Lignin und ihre Bindungen mit den Xylanketten und Proteinen (Akin, 1982; Besle *et al.*, 1994; Chesson, 1993b; Weimer *et al.*, 1991) zu erwähnen. Diese physikalischen und molekularen Barrieren müssen durch das

Kauen und Wiederkauen sowie durch die Vormagenmotilität aufgebrochen oder von den ruminalen Mikroorganismen umgangen werden, um eine zügige Kolonisierung und Verdauung zu ermöglichen (McAllister et al., 1994a,b).

Der Kau- und Wiederkauvorgang stellen die Hauptmechanismen für die Aufschlüsselung größerer Fragmente in kleinere dar (Van Soest, 1994), in dem die Oberfläche, die einem mikrobiellen Angriff zur Verfügung steht, vergrößert wird. Bewegliche Protozoen, Pilzsporen und einige Bakterienspezies im Pansensaft werden chemotaktisch von dem neu aufgenommen pflanzlichen Material (lösliche Abbauprodukte) angezogen und heften sich innerhalb von 5 – 30 Minuten nach der Aufnahme an (Hoover und Stokes, 1991; Malburg et al., 1992; McAllister et al., 1994a).

Eine bakterielle Kolonisierung scheint bevorzugt an Stellen mit geschädigter Epidermis stattzufinden, obgleich Spezies-abhängige Präferenzen für Adhäsionsstellen beobachtet wurden (Cheng et al., 1984; McAllister et al., 1994b). Diese Stellen mit Zerreißen der oberflächlichen Zellschichten sind wichtig für den Zugang zu den inneren pflanzlichen Strukturen und könnten auch die Funktionsweise von supplementierten Enzymen erklären, die zu einer Erhöhung der Verdaulichkeit führen.

Nach der initialen Kolonisierung erfolgt die Bildung eines bakteriellen „Multi-Spezies-Konsortiums“ an der Oberfläche der Futterpartikel (Cheng et al., 1984; McAllister et al., 1994a). Diese Vergesellschaftung produziert eine Vielfalt von Enzymen zum Abbau von Strukturkohlenhydraten, und die Produkte einiger Spezies werden zum Substrat von anderen im Verbund (Hoover und Stokes, 1991; Weimer, 1998). Diese Vorgehensweise sorgt dafür, dass die mikrobiellen Enzyme nah an der Zelloberfläche bleiben und dass Verluste über Diffusion und Proteolyse vermindert werden. Der Celluloseabbau wird durch den Synergieeffekt gesteigert, und die Abbauprodukte stehen den Bakterien direkt zur Verfügung, die so relativ geschützt sind vor den Protozoen (Malburg et al., 1992; McAllister et al. 1994b; Weimer, 1998). Kritische Schritte bei der Hydrolyse von Cellulose sind die Enzym- Adsorption an der Cellulose und die Bildung eines Enzym-Substrat-Komplexes (Buchholz et al., 1984; Walker und Wilson, 1991).

Exogene Enzyme als Futterzusatzstoffe könnten die zur Verfügung stehende Cellulose-Oberfläche und den Grad der Verdauung vergrößern: durch die Spaltung von H-Brücken der Cellulose zu anderen Polymeren (White et al., 1993), durch das Entfernen der Coniferyl- und p-Cumaryl-Seitenketten (für p-Cumarylsäure wurde eine inhibierende Wirkung auf das bakterielle Wachstum und die Motilität der Protozoen nachgewiesen (Akin, 1982), durch die Erhöhung von Xylanase- und Esterase-Aktivitäten (Hatfield, 1993) sowie durch das Abspalten von Lignin (White et al., 1993).

Im Pansen vorkommende Bakterien, Protozoen und Pilze besitzen ebenfalls *proteolytische* Aktivität. So wird aufgenommenes Eiweiß schnell abgebaut. Ein bis zwei Stunden nach der Fütterung sind große Stickstoffmengen für mikrobielles Wachstum verfügbar (Hoover und Stokes, 1991; Malburg et al., 1992). Das Wachstum der Mikroorganismen wird optimiert,

wenn Peptide und Aminosäuren anstatt Ammoniak benutzt werden (Hoover und Stokes, 1991); daraus folgt, dass die Energie aus der Fermentation von Grundfutter und Leistungsfutter (Getreide) zum Zeitpunkt des größten organischen N-Angebots verfügbar sein sollte.

Das Bereitstellen einer leicht verfügbaren Energiequelle wie Getreide-Stärke oder eine verbesserte Abbaurate der Strukturkohlenhydrate (wie z.B. durch den Einsatz NSP-hydrolysierender Enzyme) können demnach zu einer besseren Synchronisierung zwischen dem verfügbaren Protein in der Ration und der vorhandenen Energie führen, was sich in einer optimalen mikrobiellen Fermentation und Futterverdauung niederschlägt (Hoover und Stokes, 1991).

2.6 Verdauung von Krafffutter im Pansen

Krafffuttermittel werden eingesetzt, um den Energie- und Eiweißbedarf bei hohen Leistungen der Nutztiere zu decken. Es werden vor allem Getreide, Körnermais, Leguminosen, Ölsaaten (und deren Verarbeitungsprodukte) sowie Wurzeln und Knollen (Kartoffeln, Futterrüben, usw.) und besonders deren Verarbeitungsprodukte wie Trockenschnitzel, Melasse, usw. eingesetzt (Steinwider und Wurm, 2005).

Stärke- abbauende Mikroorganismen produzieren einen höheren Anteil an Propionsäure (35-45 mol/100 mol FFS) als Struktur- Kohlenhydrate- abbauende Mikroorganismen (15-20 mol/100 mol FFS; (Orskov, 1986)). Aus Rationen, die reich an Stärke sind, werden demnach größere Mengen Propionat gebildet, während im Vergleich dazu aus Grundfutter-reichen Diäten größere Konzentrationen an Acetat und Butyrat entstehen (Mathers und Miller, 1981; Mills *et al.*, 1999a). Bei Milchkühen kann sich dies in einem niedrigeren Milchfettgehalt auswirken (Herrera-Saldana *et al.*, 1990; Reis und Combs, 2000).

Die Zugabe von leicht löslichen Kohlenhydratquellen (z.B. Getreide) verändert also die relative Zusammensetzung der mikrobiellen Population, bis sich ein neues Gleichgewicht in Anpassung an die veränderte Ration einstellt. Die Fütterung von leicht verdaulichen Kohlenhydraten führt zu einer Anhäufung von FFS im Pansen, was mit einer Absenkung des pH-Wertes einhergeht (Knowlton, 2001; Murillo, 2000; Noziere *et al.*, 1996). Dies führt zu einer Selektion zu den mehr Säure-toleranten Spezies hin zu Ungunsten der weniger Säure-toleranten Struktur-Kohlenhydrat abbauenden Bakterien (Mills *et al.*, 1999a).

Die Protozoen können einige negative Effekte großer Mengen an Stärke zum Teil kompensieren: über eine Aufnahme von Stärke-Partikeln, was deren Fermentationszeit verlängert, über Phagozytose von Stärke abbauenden Bakterien und die Aufnahme von Milchsäure (Jouany und Ushida, 1994; Malburg *et al.*, 1992; Mills *et al.*, 1999a). Ein zu hoher Gehalt an Getreide in der Ration (und Fütterung ad libitum) kann jedoch zu einer Reduzierung der Anzahl von Protozoenspezies führen (Hristov *et al.*, 2001). Ähnliche Auswirkungen sind ebenfalls bei der Pilzpopulation im Pansen zu erwarten (Gordon und

Phillips, 1995). Es ist offensichtlich, dass derartige Änderungen in der Population der Mikroorganismen mit Veränderungen der enzymatischen Aktivität im Pansen einhergehen. So berichteten Noziere und Michalet-Doreau (1997) von einem linearen Anstieg der Amylase- Aktivität bei einer Erhöhung des Gerste-Anteils einer auf Grundfutter basierenden Ration. Des Weiteren beobachteten Martin und Michalet-Doreau (1995) eine niedrigere fibrolytische Enzymaktivität (Xylanase, Cellulase, Glucosidase; 23 Stunden nach der Fütterung) bei Verfütterung einer mit Gerste ergänzten Diät im Vergleich zu einer reinen Grundfütterration.

Ein Ziel der *Supplementierung* von Enzymen ist es, einen solchen Verlust an fibrolytischer Aktivität (bei Hochleistungsrationen) auszugleichen. Colombatto *et al.* (2003a) konnten in diesem Zusammenhang einen moderaten Abfall der fibrolytischen Enzymaktivität durch eine Enzymsupplementierung unter niedrigen pH-Wert Bedingungen *in vitro* nachweisen.

2.7 Funktionsweise von supplementierten Enzymen bei Wiederkäuern

Einleitend kann festgestellt werden, dass beim Einsatz von NSP-spaltenden Enzymen in der Wiederkäuerfütterung Wirkungsorte und -mechanismen noch nicht abschließend geklärt sind. Als mögliche Wirkungsorte werden das Futter (Modifizierung der Rohfaser), der Pansen (Ergänzung des hydrolytischen Potentials) und der postruminale Verdauungstrakt (Senkung der Digestaviskosität) diskutiert.

In einer Reihe von Reviews wird der Einsatz von Enzymen als Futterzusatzstoffe beim Wiederkäuer beschrieben (Annison, 1997; Beauchemin *et al.*, 2004a; Beauchemin *et al.*, 2004b; Beauchemin *et al.*, 2001; Beauchemin und Rode, 1996; Officer, 2000; Rode *et al.*, 2001; Wang und McAllister, 2002). Auf dem Gebiet der Produktentwicklung herrscht momentan ein reges Forschungsinteresse, um die genaue Funktionsweise beim Einsatz von Enzymen bei Wiederkäuern zu verstehen und so bessere Produkte herzustellen bzw. um die Feststellung von keinen bzw. negativen Effekten bei einigen Studien zu erklären.

Die Funktionsweise von Enzymen ist sehr komplex. Hinzu kommen eine Vielzahl von verfütterten Diäten, die Struktur der Futterbestandteile, die Vielzahl und Variabilität der eingesetzten Präparate und das komplexe mikrobiologische System in den Vormägen (Colombatto *et al.*, 2003c). Eine Supplementierung von Enzymen zur Diät bzw. eine direkte Verabreichung an Wiederkäuer hat Einflüsse auf das Futter, die Mikroorganismen und Enzymgehalte des Pansens.

2.7.1 Enzym-Wirkungen vor der Fütterung

Das Aufbringen von Enzymen auf das Futter führt zu einer Substrat-Hydrolyse, die sich im Löslichmachen von Futtertrockenmasse, einem reduzierten Fasergehalt oder in der Freisetzung von reduzierenden Zuckern äußert (Colombatto *et al.*, 2003c). Dies konnte bei unterschiedlichen Substraten gezeigt werden: Stroh und Heu (Colombatto *et al.*, 2003b; Gwayumba, 1997; Nakashima *et al.*, 1988; Nsereko *et al.*, 2000b; Tirado-Estrada *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2004), Gerstenkörner (Wang *et al.*, 2001a), Hafer (Yu *et al.*, 2001), Silage (Colombatto *et al.*, 2003b; Gwayumba, 1997; Hristov *et al.*, 1996; Morgavi *et al.*, 2004; Vanvuuren *et al.*, 1989; Wang *et al.*, 2002) und bei einer totalen Mischration (TMR) (Hristov *et al.*, 1998a; Krause *et al.*, 1998).

Diese „Vor-Verdauungseffekte“ haben einen Einfluss auf das Anhaften der Mikroorganismen und die Kolonisierung der Futterpartikel durch Schädigung der pflanzlichen Oberflächen, durch Freisetzung von chemotaktisch wirksamen Abbauprodukten und einer größeren Abbaubarkeit der Futterpartikel gegenüber den natürlicherweise im Pansen vorhandenen Enzymen.

Morgavi *et al.* (2004) vermuteten aufgrund von *in vitro* Beobachtungen, dass der Einsatz von Enzymen zu einer größeren Oberfläche an pflanzlichen Strukturen führt und dies der Grund für eine stärkere mikrobielle Adhäsion ist. Colombatto *et al.* (2003c) führten ebenfalls *in vitro*-Inkubationsversuche durch und nahmen an, dass zugesetzte Enzyme Bindungsstellen für Mikroorganismen durch eine Schwächung der Cellulose-Struktur schaffen könnten. Eine effektive Wirkung von exogenen Enzymen vor der Verfütterung resultiert also zum Teil in Veränderungen von Futter-Strukturbestandteilen; diese können dann von den Mikroorganismen des Pansens für eine verstärkte Kolonisierung und verstärktes Wachstum ausgenutzt werden. Sie könnten auch die Verdaulichkeit des Futters durch die Freisetzung von löslichen Zuckern und Disacchariden erhöhen und so eine weitere Produktion von Enzymen durch die Mikroorganismen selbst induzieren (Bhat und Bhat, 1997; Goyal *et al.*, 1991; Wood und Bhat, 1988).

Wenn man eine Wirkung von supplementierten Enzymen auf die Struktur-Kohlenhydrate annimmt, so wäre eine Änderung im Kau- und Wiederkauverhalten, eine verminderte Speichelproduktion und damit eine größere Gefahr einer Pansenacidose denkbar. In der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL, Braunschweig) wurde der Einfluss einer Zulage von NSP-spaltenden Enzymen (Glucanase- und Xylanaseaktivitäten) auf die Wiederkauaktivität und einige Pansenparameter bei Milchkühen untersucht. Dabei kamen Böning *et al.* (2005) zu folgenden Ergebnissen: Bezüglich der Wiederkauaktivität waren keine Unterschiede zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe festzustellen (mittlere Wiederkauaktivität 511 Minuten/Tag gegenüber 515 Minuten/Tag in der Kontrolle). Auch die Charakteristik der Wiederkauaktivität im Tagesverlauf (über 24 Stunden) zeigte keine

Unterschiede, so dass die Autoren nicht von einer verminderten Strukturwirksamkeit der eingesetzten Futtermittel durch die Enzymzulage ausgehen. Bezüglich des pH-Wertes in der Pansenflüssigkeit war ein geringfügig niedrigerer pH-Wert in der Versuchsgruppe zu bestimmen; jedoch konnten zu keinem Zeitpunkt der Probennahme signifikante Unterschiede nachgewiesen werden. Bezüglich der Konzentration an flüchtigen Fettsäuren und $\text{NH}_3\text{-N}$ ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede. In Übereinstimmung mit diesen Untersuchungen konnten Sutton *et al.* (2003) ebenfalls keinen Einfluss einer Enzymzulage zur TMR auf die Pansenparameter feststellen. Im Gegensatz dazu berichteten Hristov *et al.* (2000) von niedrigeren pH-Werten bei einer Enzymzulage, was auf eine schnellere Fermentationsrate der Kohlenhydrate zurückgeführt wurde.

In einer aktuellen Studie von Knowlton *et al.* (2007) untersuchten die Autoren den Einfluss einer Cellulase/Phytase-Formulierung, welche 1 bis 3 Wochen vor der Fütterung an laktierende Kühe zum Getreideanteil hinzugegeben wurde, auf die Zusammensetzung der tierischen Abprodukte. Dabei wurde eine Abnahme der Ausscheidung von Nährstoffen mit dem Kot beobachtet, was auf einen verbesserten Aufschluss der Futterbestandteile hinweist.

2.7.2 Enzym-Wirkungen im Pansen

Eine Erhöhung der enzymatischen Aktivität im Pansen (durch das Aufbringen von Enzymen auf das Futter und durch direkte Verabreichung) scheint ein möglicher Wirkungsmechanismus zu sein. Da Enzyme Proteine sind, erwartet man eine Proteolyse und Inaktivierung der enzymatischen Aktivität im Pansen. McAllister *et al.* (1999) nannten als Faktoren, welche die Effektivität von Enzympräparaten beeinflussen, ihre Stabilität gegenüber Proteolyse, die Abstimmung einzelner Enzyme aufeinander und den Grad der Aufrechterhaltung ihrer Aktivität. Hristov *et al.* (1998b), Morgavi *et al.* (2000b) und Morgavi *et al.* (2001) berichteten, dass Cellulase- und Xylanase-Aktivitäten (Fermentationsprodukte von Pilzen) für mindestens 6 Stunden beim Kontakt mit Pansensaft stabil waren; diese Beobachtungen wurden sowohl bei Kühen als auch bei Schafen, denen ein Grund- und Kraffuttermischung verabreicht wurde, gemacht. Diese Untersuchungen unterstützen die Annahme, dass supplementierte Enzyme eine angemessene Zeit den Kontakt mit Pansenflüssigkeit überstehen können.

Es wurden Bemühungen angestellt, die Stabilität von exogenen Enzymen zu erhöhen. So berichteten Morgavi *et al.* (2000b), dass eine Zugabe von bovinem Serum Albumin und löslichen pflanzlichen Proteinen einen gewissen Schutz vor proteolytischem Abbau geboten hat (Halbwertszeit einer β -Glucosidase von 0,5 auf 3 Stunden). Van de Vyver *et al.* (2004) beobachteten, dass glycosylierte Xylanasen bei *in vitro* Versuchen mit Pansensaft in den ersten 6 Stunden der Inkubation stabiler waren als nicht-glycosylierte Enzyme. Ferner wurde der kombinierte Einsatz von Enzymen und Tensiden, welche die Oberflächenspannung herabsetzen, geprüft. Dieser Versuchsansatz erhöhte die Enzymstabilität *in vitro* und die

Bindungskapazität des Enzyms mit dem Substrat (McAllister *et al.*, 2000). Eine Reihe von *in vitro* Studien ist mit so genannten Rusitec-Fermentationssystemen durchgeführt worden, die das Pansenmilieu simulieren. Eine kürzlich veröffentlichte Untersuchung von Giraldo *et al.* (2007) über den Einsatz von zwei unterschiedlichen Cellulasen (*Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus niger*) in diesem etablierten Versuchsaufbau ergab, dass eine Supplementation zu einer signifikanten Verringerung des NDF- und ADF-Gehaltes des Substrates führte. Außerdem wurde die Produktion von Methan und flüchtigen Fettsäuren um etwa 15 % signifikant gesteigert. Es gibt Unterschiede bei einzelnen Enzymaktivitäten bezüglich ihrer Stabilität gegenüber mikrobiellem Abbau. So sind β -Glucosidase und β -Xylosidase im Wesentlichen nach einstündiger Inkubation zerstört (Morgavi *et al.*, 2001; Morgavi *et al.*, 2000b). Morgavi *et al.* (2001) berichteten ebenfalls, dass Xylanase und β -Glucanase Aktivitäten (*Trichoderma*) stabiler sind als Cellulasen nach sechsstündiger Inkubation mit Pansensaft, wobei hohe Enzymkonzentrationen stabiler waren als niedrige (2 g/l vs. 0,2 g/l). Wenn die weniger stabilen enzymatischen Aktivitäten limitierend bei den zu erzielenden Effekten sind, wird die Applikationsart und -menge für einen erfolgreichen Einsatz umso wichtiger.

Aufgrund von durchschnittlichen fibrolytischen Aktivitäten im Pansensaft haben Beauchemin und Rode (1996) geschätzt, dass zugesetzte Enzyme bis zu 15 % der gesamten fibrolytischen Aktivität im Pansen bereitstellen können. Setzt man jedoch voraus, dass der Hauptteil der enzymatischen Aktivität an Feststoffe gebunden ist (McAllister *et al.*, 1994), so dürfte sich dies um eine Überschätzung handeln.

Andere Faktoren, die den relativen Anteil von zugesetzten Enzymen an der Gesamtaktivität beeinflussen, sind tierindividuelle Unterschiede im Pansenmilieu und die aktuelle Fütterung. So zeigten Pansensaftproben, die 2 Stunden nach der Fütterung von Milchkühen entnommen wurden, Schwankungen zwischen den einzelnen Kühen um mehr als 100 % bezüglich der Cellulase-, Xylanase- und Protease-Aktivitäten (Morgavi *et al.*, 2001). Diese Beobachtungen legen den Schluss nahe, dass einige Tiere geeignete Bedingungen für einen erfolgreichen Enzympräparate-Einsatz aufweisen und andere hingegen nicht. Sutton *et al.* (2003) nahmen an, dass eine Senkung des pH-Wertes bei Getreidefütterung zu einer relativen Aktivitätszunahme der exogenen fibrolytischen Enzyme führen könnte, da das pH-Optimum von exogenen Enzymen niedriger ist (pH 4.0-6.0) als bei endogenen Enzymen (Morgavi *et al.*, 2000a; Vicini *et al.*, 2003). Eine mögliche Zunahme der enzymatischen Gesamtaktivität ist demnach abhängig von der Zusammensetzung der gefütterten Ration.

2.7.2.1 Verbesserte Kolonisierung mit Mikroorganismen

Newbold (1997) postulierte, dass zugesetzte Enzyme möglicherweise die Anheftung von Mikroorganismen an pflanzliche Strukturen im Pansen fördern könnten. Mit Hilfe eines Elektronenmikroskops (Wang *et al.*, 2001b) und mikrobieller Inkorporation von ^{15}N (Wang *et*

al., 2004) konnten eine verbesserte Kolonisierung und größere morphologische Vielfalt der kolonisierenden Bakterien an Grundfutter, das vor der Fütterung mit Enzymen der Spezies *Trichoderma* behandelt wurde, nachgewiesen werden (Wang *et al.*, 2001a). Morgavi *et al.* (2004) beobachteten eine verbesserte bakterielle Anheftung, als sie Luzerneheu und Maissilage *in vitro* mit niedrigen Konzentrationen (470 IU Xylanase/kg, 39° C, pH 6.0) von Enzymen inkubierten. Bei hohen Enzymkonzentrationen (4670 IU/kg) war kein Unterschied bzw. sogar eine schlechtere Anheftung von Mikroorganismen im Vergleich zur Kontrollgruppe zu beobachten. Yang *et al.* (1999) berichteten bei einer zwölfstündigen Inkubationszeit von mit Enzymen behandelten Luzerneheu-Würfeln ebenfalls von einer stärkeren Kolonisierung im Vergleich zu den Kontrollwürfeln.

2.7.2.2 Förderung von mikrobiellen Populationen

Eine Zugabe von exogenen Enzymen kann zu einer Förderung bestimmter Mikroorganismen-Populationen und einer Erhöhung ihrer Anzahl führen. Es ist eine Bandbreite an Reaktionen zu finden: Einige Studien zeigen eine Stimulierung der cellulolytischen Bakterien (Ouellet und Chiquette, 2001; Wang *et al.*, 2001a). Wang *et al.* (2001a) beobachteten eine 10-fach höhere Anzahl cellulolytischer Bakterien bei Zulage eines Enzymproduktes (vorwiegend Xylanase Aktivität), welches 24 Stunden vor der Fütterung auf das Futter gesprüht wurde, im Vergleich zum Aufsprühen von Wasser. Andere Autoren fanden eine Zunahme von Cellobiose-, Xylan-, und Amylose-abbauenden (Nsereko *et al.*, 2002) und Methan-bildenden Bakterien (Dong *et al.*, 1999), ohne Änderungen an der cellulolytischen Population zu beobachten. Hiermit übereinstimmend berichteten Colombatto *et al.* (2003a) von einer unveränderten Anzahl Cellulose-abbauender Bakterien bei einem insgesamt zu verzeichnendem Anstieg der Gesamt-Bakterienzahl bei Behandlung einer TMR (1,5 ml/kg TM) mit einem Enzympräparat 12 Stunden vor einer *in vitro* Inkubation.

Bei Protozoen kam es zu einer Abnahme (Nsereko *et al.*, 2002) oder zu einer teilweisen Elimination (Niver *et al.*, 1973) beim Einsatz von Enzympräparaten (Pilz-Fermentationsprodukte). Diese Abnahme könnte ein Grund für die Zunahme bestimmter bzw. der Gesamtbakterien-Population sein. So beobachteten Nsereko *et al.* (2002) einen quadratischen Anstieg der Anzahl wachstumsfähiger Bakterien beim Einsatz steigender Enzymkonzentrationen (Xylanase/Cellulase aufgebracht auf Konzentrate) bei einer entsprechenden quadratischen Abnahme der Protozoen-Population. Höhere Enzymkonzentrationen führten auch zu einer linearen Abnahme der Pilz-Zoosporen- Anzahl. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die erwähnten möglichen Änderungen der Bakterien-Population einen Schlüsselmechanismus darstellen könnten, um eine Zunahme der hydrolytischen Kapazität des Pansens durch Zugabe exogener Enzyme zu erklären.

2.7.2.3 Stimulierung endogener Enzyme

Einige Studien berichten von einer Verstärkung (Colombatto *et al.*, 2003a; Colombatto *et al.*, 2003c; Hristov *et al.*, 1998a; Hristov *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2001a), andere von einer synergistischen Förderung der endogenen Enzyme im Pansen (Hristov *et al.*, 1998b; Morgavi *et al.*, 2000a). Unter Synergie versteht man eine Zunahme der Aktivitäten von zwei oder mehr Enzymen über die Addition der einzelnen Aktivitäten hinaus. Hristov *et al.* (1998b) brachten 2 Enzymprodukte (Cellulase/Xylanase/ β -Glucanase) direkt in den Pansen von laktierenden Kühen, denen eine Grundfutter/Gerste-Ration verabreicht wurde, ein. Sie beobachteten, dass die durchschnittlichen Cellulase-Aktivitäten im Pansensaft um 169 und 198 % höher waren als in der Kontrollgruppe; ein Präparat führte zu einer Zunahme der Xylanase-Aktivität um 375 % und die durchschnittliche β -Glucanase-Aktivität war um 107 % höher als in der Kontrolle. Morgavi *et al.* (2000a) kombinierten endogene Enzyme aus dem Pansensaft von Mastrindern, denen entweder eine konzentratreiche oder rohfaserreiche Ration gefüttert wurde, *in vitro* mit Enzympräparaten (Fermentationsprodukte von *Trichoderma* mit Xylanase-, Cellulase- oder gemischten Aktivitäten) und inkubierten diese mit Maissilage. Im Vergleich zu dem additiven Aktivitätsniveau führte eine Kombination von exogenen Cellulase- und gemischten Aktivitäten mit den endogenen Enzymen (bei beiden Rationen) zu einem um 35 und 20 % verbesserten Abbau von Carboxymethylcellulose. Der Abbau von Xylan wurde durch die Zugabe der exogenen Xylanase um mehr als 100 % des erwarteten additiven Wertes erhöht, und dieser Effekt war am größten bei der konzentratreichen Ration. Synergistische Effekte konnten ebenfalls für die Freisetzung von reduzierenden Zuckern aus Maissilage (insbesondere zwischen pH 5 und 6) festgestellt werden. Die Bedeutung der Applikationsmenge und der Rationszusammensetzung für die zu erzielenden Effekte mit exogenen Enzymen wird in diesen *in vitro* Versuchen deutlich.

Einen weiteren Hinweis für die Förderung der mikrobiellen Fermentation durch den Einsatz exogener Enzyme gibt eine verstärkte *in vitro* Gas-Produktion, wie sie bei der Inkubation von Konzentraten (Clark *et al.*, 1961; Iwassa, 1997), Grundfutter (Kung *et al.*, 2002) und Silage (Wallace *et al.*, 2001) mit Pansenflüssigkeit beobachtet wurde.

2.7.2.4 Zusammenfassung der ruminalen Effekte

Die Aktivitäten zugesetzter Enzyme können über mehrere Stunden im Pansen erhalten bleiben, wobei eine Bindung an Futterpartikel diese Zeit verlängert. Die Steigerung der hydrolytischen Kapazität des Pansens ist relativ gering (<15 %) und abhängig von der Rationszusammensetzung und tierindividuellen Einflussfaktoren. Im Pansen wird die Verdauungskapazität folgendermaßen erhöht: Zum einen durch die Zunahme der hydrolytischen Kapazität und zum anderen durch synergistische Interaktionen mit den endogenen Enzymen, durch eine verbesserte Kolonisierung der Futterpartikel mit Mikroorganismen und die Förderung bestimmter Mikroorganismen-Populationen. Es

erscheint möglich, dass exogene Enzyme einen positiven Einfluss auf die Transportgeschwindigkeit der Digesta haben und dass die Abnahme des Rohfaserabbaus bei niedrigen pH-Werten moderater ausfällt.

2.7.3 Einfluss exogener Enzyme auf die post-ruminale Verdauung

Sofern Enzymsupplementierungen einen Einfluss auf die post-ruminale Verdauung haben, muss eine gewisse Säurestabilität und Widerstandsfähigkeit gegenüber abomasalen und intestinalen Proteasen vorhanden sein. *In vitro* Versuche (Almirall und Estevegarcia, 1995; Morgavi *et al.*, 2001) haben den Einfluss eines sauren Milieus, das Vorhandensein von Pepsin (pH 3,2 und 3,0) und die Gegenwart von Pancreatin (pH 8,5 und 7,0) auf die Stabilität einer Enzymmischung (β -Glucanase/Cellulase/Xylanase) untersucht. Saure pH-Werte und Pepsin hatten einen minimalen Einfluss auf die Enzymaktivitäten (nach 1,5 Stunden ca. 90 % der ursprünglichen Aktivität vorhanden); die Gegenwart von Pancreatin jedoch führte bereits nach 15 Minuten Inkubation zu einer signifikanten Aktivitätsabnahme.

Hristov *et al.* (1998a) beobachteten hingegen keine Stabilität von Cellulase- und β -Glucanase-Aktivitäten gegenüber niedrigen pH-Werten und Pepsin. Xylanase und Amylase waren widerstandsfähiger gegen eine Pepsinverdauung, jedoch bei niedrigen pH-Werten (<2,0) erfolgte auch hier eine Inaktivierung.

Hristov *et al.* (2000; 1998b) bestätigten eine Zunahme von duodenalen Cellulase-, Xylanase- und Amylase-Aktivitäten nach einer direkten Infusion eines Präparates mit gemischten Aktivitäten in den Pansen von laktierenden Kühen und Jungkühe im Vergleich zur Kontrolle. Die Applikation auf das Futter führte lediglich zu einer Erhöhung der duodenalen Xylanase-Aktivität und nicht zu einer Zunahme der Cellulase-Aktivität aufgrund von Proteolyse im Labmagen. Es wird angenommen, dass Zunahmen der postruminalen Verdauung die Folge einer unzureichenden Verweildauer der exogenen Enzyme im Pansen (z.B. durch ungenügende Bindung an Futterbestandteile) sind. Eine Zunahme der intestinalen Enzymaktivitäten könnte auch durch einen „flow-on“ Effekt aufgrund einer besseren Fermentationsleistung im Pansen hervorgerufen sein. Dies könnte sich in einer Zunahme des duodenalen Proteinflusses äußern, was die Sekretion von Amylase aus der Bauchspeicheldrüse stimulieren und so die Stärke-Verdauung im Dünndarm effizienter machen würde (Mills *et al.*, 1999b). Nowak *et al.* (2003) führten Untersuchungen mit supplementierten Enzymen (Xylanase/Cellulase) bei nicht-laktierenden Kühen durch und beobachteten eine Zunahme der intestinalen Verdauung bei Verfütterung einer TMR und Weizenstroh, wobei keine statistische Signifikanz bestand. Diese Studien zeigen, dass der Einsatz exogener Enzyme auch einen Einfluss auf die postruminale Verdauung haben kann.

2.8 Bisheriger Einsatz von exogenen Enzymen bei Wiederkäuern

Exogene Enzyme wurden bei Schafen, Mastrindern und laktierenden Kühen eingesetzt.

2.8.1 Schafe

Der Einsatz von exogenen Enzymen bei Schafen hat zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt. So wurde entweder kein Einfluss auf die Trockenmasseaufnahme (McAllister *et al.*, 1999; Rojo *et al.*, 2001; Sheperd und Kung, 1994; Theurer *et al.*, 1963; Van Walleghem *et al.*, 1964) oder eine größere Aufnahme von Trockenmasse oder organischer Masse festgestellt (McAllister *et al.*, 2000; Pinos-Rodriguez *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2000).

Die Verdaulichkeiten im Magen-Darm-Trakt bei Schafen wurde durch den Einsatz von exogenen Enzymen in der Regel nicht signifikant beeinflusst (Judkins und Stobart, 1988; McAllister *et al.*, 1999; McAllister *et al.*, 2000; Mora, 2001; Sheperd und Kung, 1994; Theurer *et al.*, 1963; Van Walleghem *et al.*, 1964; Yang *et al.*, 2000). Einige Studien berichten hingegen von einer größeren Verdaulichkeit von TM (Grainger und Stroud, 1960; Pinos-Rodriguez *et al.*, 2002), Rohfaser (Grainger und Stroud, 1960; Judkins und Stobart, 1988; Niver *et al.*, 1973; Pinos-Rodriguez *et al.*, 2002) und Rohprotein (Grainger und Stroud, 1960; Pinos-Rodriguez *et al.*, 2002). McAllister *et al.* (1999) berichteten von einer verminderten TM- und NDF-Verdaulichkeit bei intraruminaler Infusion eines exogenen Enzymgemisches im Vergleich zur Applikation über das Futter.

In den meisten an Schafen durchgeführten Studien konnten keine Effekte von exogenen Enzymen auf Parameter des Pansensaftes wie pH-Wert, Ammoniak-Konzentration, die Konzentration und Zusammensetzung der flüchtigen Fettsäuren, die ruminale Enzymaktivität und die Anzahl der Cellulose- abbauenden Bakterien beobachtet werden (Judkins und Stobart, 1988; McAllister *et al.*, 1999; McAllister *et al.*, 2000; Mora, 2001; Pinos-Rodriguez *et al.*, 2002). Trotz des generellen Fehlens von Enzym-induzierten Effekten sind einige Veränderungen im Pansen beobachtet worden: Rojo *et al.* (2001) berichteten, dass die Inklusion von durch Bakterien und Pilzen hergestellten Amylasen (2.9 g/kg Getreide) die *in sacco* Trockenmasse-Verdaulichkeit nach 12 Stunden bei einer 79 % Hirse Ration vergrößert hat (60,8 % Kontrolle vs. 64,3 und 65,5 %). Bei der Verabreichung des gleichen Enzymgemisches (2,1g/kg Hirse) beobachteten Mora *et al.* (2001) eine verbesserte ruminale Stärke-Verdauung (durchschnittlich 85 % vs. 75% Kontrolle) bei Schafen und Lämmern, denen eine 50 %-ige Hirse Ration verfüttert wurde. Pinos-Rodriguez *et al.* (2002) berichteten von einem Anstieg der Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren im Pansensaft aufgrund einer Supplementation von Enzymen. Bezüglich täglicher durchschnittlicher Gewichtszunahmen, der Futtermittelverwertung und Beschaffenheit der Schlachtkörper konnten keine signifikanten Unterschiede bei einer Supplementation von exogenen Enzymen im Vergleich zur Kontrolle beobachtet werden (McAllister, *et al.*, 2000; Mora, 2001; Rea und Ross, 1960; Rojo *et al.*, 2001).

In einigen Studien schien eine vorhandene schlechte Grundverdaulichkeit der Ration zu einer Verstärkung der Effekte exogener Enzyme zu führen (Pinos-Rodriguez *et al.*, 2002; Titi und Tabbaa, 2004). Positive Ergebnisse sind aber auch bei Verfütterung einer Ration mit

einem hohen Anteil an leicht verdaulicher Gerste beobachtet worden (McAllister *et al.*, 2000; Titi und Tabbaa, 2004).

2.8.2 Mastrinder

Frühe Studien in den 1960er Jahren (Burroughs *et al.*, 1960; Nelson und Catron, 1960; Perry *et al.*, 1960; Perry *et al.*, 1966) untersuchten den Einsatz bakteriell hergestellter exogener Enzyme bei Mastrindern, welche Cellulase-, Amylase- und Protease- Aktivitäten aufwiesen (Agrozyme[®], Fa. Merck). Burroughs *et al.* (1960) führten 10 Fütterungsversuche durch und beobachteten eine signifikant höhere tägliche Futteraufnahme. Des Weiteren wurden die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme um 7 % und die Futterverwertung um 6 % im Vergleich zur Kontrollgruppe gesteigert. Perry *et al.* (1966) kam zu ähnlichen Ergebnissen. Nelson *et al.* (1960) supplementierten das gleiche Präparat bei Verfütterung einer Mais/Luzerneheu-Ration und beobachteten eine um 14 % gesteigerte durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme und eine um 10 % bessere Futterverwertung im Vergleich zur Kontrollgruppe. Im Gegensatz dazu berichteten Perry *et al.* (1960) von einer verminderten durchschnittlichen täglichen Gewichtszunahme (19%) bei einer Zugabe des Enzympräparates zu einer Ration auf Mais-Basis aufgrund einer verminderten Futteraufnahme (7 -16%).

In einer Verdaulichkeitsstudie konnten Burroughs *et al.* (1960) keine Veränderungen bezüglich der Verdaulichkeit von Trockenmasse, Rohprotein oder Cellulose in einer auf Mais basierenden Ration nachweisen. Perry *et al.* (1966) hingegen beobachteten eine gesteigerte Verdaulichkeit von Trockenmasse (68 vs. 64 %) und Rohprotein (74 vs. 72%) bei der Supplementation von Agrozyme[®]. Burroughs *et al.* (1960) nahmen an, dass die beobachteten Veränderungen bezüglich Futteraufnahme und Produktionsparameter, die ohne Veränderungen der Gesamtverdaulichkeit einhergingen, auf den Einfluss der exogenen Enzyme auf die *ruminale* Verdaulichkeit zurückzuführen waren. Außerdem stellten die Autoren fest, dass der prozentuale Anteil an Protein in der Ration einen Einfluss auf die möglichen Effekte einer Enzymsupplementation haben kann. Dabei waren Effekte in Rationen mit niedrigen Proteingehalten (<10% Rohprotein) größer (Verbesserung: 10 % Lebendmassezunahme, 8 % Futterverwertung) als in Rationen mit hohen Proteingehalten (Verbesserung: 3% Lebendmassezunahme, 2% Futterverwertung).

Aufgrund der variablen Versuchsergebnisse und hohen Kosten der exogenen Enzyme schwand zunächst das Forschungsinteresse in jener Zeit zunehmend.

In neuerer Zeit wurde eine Reihe von Studien mit exogenen Enzymen durchgeführt. Dies betraf hauptsächlich Cellulase/Xylanase Mischungen, die einer grundfutterreichen Ration zugefügt wurden. Die hervorgerufenen Effekte waren vor allem von der Dosierung und der Zusammensetzung der Ration abhängig. Als Beispiel sei hier die Studie von Beauchemin *et al.* (1995) erwähnt. Sie verwendeten eine Kombination von Xylanase B[®] (Biovance

Technologies) und Spezyme CP[®] (eine Cellulase; Genecor, USA) bei Verfütterung von Rationen basierend auf Luzerneheu, Wiesenlieschgrasheu und Gerstensilage. Die Enzyme wurden beim Heu vor der Würfelherstellung und bei der Silage unmittelbar vor der Fütterung in 6 unterschiedlichen Dosierungen von 0 bis 15800 IU Xylanase/kg TM eingebracht. Die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme war bei niedrigen Enzymkonzentrationen und Luzerneheu größer (1.34, 1.28 und 1.27 kg/d bei 4733, 1800 und 900 IU Xylanase gegenüber 1.03 kg/d in der Kontrollgruppe). Beim Wiesenlieschgrasheu war lediglich mit der höchsten verwendeten Enzymkonzentration (12000 IU/kg TM) ein signifikanter Unterschied zu beobachten (1.64 vs. 1.21 kg/d). Diese Effekte wurden beim Luzerneheu und niedrigen Enzymkonzentrationen mit einer verbesserten Rohfaserverdaulichkeit und bei mittleren Enzymkonzentrationen mit einer gesteigerten Trockenmasseaufnahme erklärt. Die Effekte bei Verfütterung von Wiesenlieschgrasheu wurden ebenfalls mit einer verbesserten Rohfaserverdaulichkeit erklärt. Bei der eingesetzten Gerstensilage waren keine Unterschiede in der Trockenmasseaufnahme, der durchschnittlichen täglichen Gewichtszunahme und der Futterverwertung zwischen Enzymbehandlung und Kontrolle zu beobachten; dies könnte mit dem unterschiedlichem Feuchte- und Proteingehalt der Ration, der Dosierung und unterschiedlichen Applikationsart der exogenen Enzyme sowie einschränkenden Faktoren in der Silage selbst zusammen hängen (Nsereko *et al.*, 2000a).

In einer Reihe von Studien (McAllister, *et al.*, 1999; Michal, 1996; Pritchard *et al.*, 1996; ZoBell *et al.*, 2000) wurden Cellulase/Xylanase-Mischungen in Dosierungen bis 5 g bzw. ml/kg TM bei von Grundfutter dominierten Rationen eingesetzt. ZoBell *et al.* (2000) beobachteten keinen signifikanten Einfluss von exogenen Enzymen auf die Trockenmasseaufnahme, die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme, die Futterverwertung und die Beschaffenheit der Schlachtkörper. Michal *et al.* (1996) berichteten hingegen von einer höheren Futteraufnahme (8,7%) ohne Änderung der Futterverwertung, und sie fanden eine Tendenz für eine verbesserte durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme bei einer Supplementation von Enzymen. Dabei war die Gewichtszunahme bei einer 2:1 Cellulase/Xylanase-Mischung um 13% höher als bei einer 1:2 Mischung.

Nicht alle Studien an Mastrindern mit grundfutterreichen Diäten führten zu positiven Ergebnissen. Austin *et al.* (2003) fanden beim Einsatz fibrolytischer Enzyme keinen Unterschied bezüglich täglicher Gewichtszunahmen im Vergleich zur Kontrolle. Szasz *et al.* (2003) verwendeten ein Cellulase/Xylanase-Gemisch, das unmittelbar vor der Fütterung auf die Ration gesprüht wurde. Es konnten keine Unterschiede im Lebendgewicht, Körperkondition ante- und post partum, bei den Geburtsgewichten der Kälber und Fruchtbarkeitskennzahlen im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden.

Bei Studien zum Einsatz von exogenen Enzymen zusammen mit Kraftfutter- bzw. getreidereichen Rationen sind insbesondere Weizen, Hirse und Mais eingesetzt worden. Insgesamt kann festgestellt werden, dass die Trockenmasseaufnahme durch eine

Enzymsupplementation nahezu unbeeinflusst war (Beauchemin *et al.*, 1999a; Boyles *et al.*, 1992; Richardson *et al.*, 1990; Wang *et al.*, 2003) oder leicht abnahm (Beauchemin *et al.*, 1997; Iwassa, 1997; ZoBell *et al.*, 2000). Bei diesen Studien wurde die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme durch die Zugabe der Enzyme durchschnittlich um 9 % und die Futtermittelverwertung um 8 % gesteigert. Diese positiven Veränderungen werden den Wirkungen der exogenen Enzyme im Pansen, (Beauchemin *et al.*, 1997; Beauchemin *et al.*, 1999a; Iwassa, 1997) wie einer gesteigerten Fermentation (Clark *et al.*, 1961; Iwassa, 1997) zugeschrieben. Iwassa *et al.* (1997) untersuchten den Einfluss der Zulage des Produktes Xylanase B[®] (Fa. Biovance Technologies) bei 60 Mastriestern (Ø 476 kg). Die Konzentrate wurden mit 0, 1 oder 2 ml/kg der Enzymlösung behandelt. Die Trockenmasseaufnahme war bei der behandelten Tiergruppe niedriger (9,7 vs. 10,4 kg/d), und die Verdaulichkeit der Trockenmasse war in der 1-ml Behandlungsgruppe höher als in der 2-ml bzw. der Kontrollgruppe (70,9, 66,1 bzw. 67,6%). Des Weiteren inkubierten die Autoren enzymbehandeltes Getreide für 48 Stunden mit Pansensaft. Dabei beobachteten sie eine gesteigerte Gasproduktion und eine Tendenz für eine gesteigerte Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren, was durch eine gesteigerte mikrobielle Aktivität und Rohfaserverdauung erklärt wurde.

Beauchemin *et al.* (1999a) verabreichten in ihrer Studie 1200 Jungkühe ein verdünntes Cellulase/Xylanase-Gemisch, das 18 Stunden vor der Fütterung auf die Konzentrate aufgebracht wurde. Die Kontrollgruppe erhielt das entsprechende Volumen an Wasser. Die Schwankungen in der täglichen Trockenmasseaufnahme waren in der enzymbehandelten Gruppe kleiner. Dies wurde als Ergebnis einer besseren Rohfaserverdauung unter niedrigen pH-Bedingungen gedeutet. Die Zulage des verdünnten Enzymgemisches steigerte die täglichen Zunahmen um 9% (1,53 vs. 1,40 kg/d) und verbesserte die Futtermittelverwertung (6,9 vs. 7,7 kg TM/kg Zunahme) im Vergleich zur Kontrolle.

Tricarico *et al.* (2007) untersuchten den Einfluss der Supplementation einer α -Amylase (*Aspergillus oryzae*) auf die Leistungen und Beschaffenheit der Schlachtkörper bei Rindern in der Endmast. Dabei konnten die Autoren zum einen signifikante Unterschiede in den Leistungen in Abhängigkeit von der Raufutterquelle (Luzerneheu vs. Baumwollsamens-Hülsen) nachweisen. Die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme wurde bei der Baumwollsamens-Hülsen-Ration in den ersten 28 sowie im Zeitraum der ersten 112 Tage des Versuches signifikant gesteigert. Darüber hinaus bestand eine Tendenz für größere tägliche Zunahmen in den anderen Zeitintervallen der Studie. Am Schlachtkörper konnte eine signifikant größere Fläche des *M. Longissimus* bei beiden Raufutterarten mit einer Supplementation der α -Amylase nachgewiesen werden. Tricarico *et al.* (2007) führten dabei die gesteigerten Gewichtszunahmen auf eine Erhöhung der Trockenmasseaufnahme zurück, was sie auch durch die Tatsache, dass derartige Effekte bei restriktiver Fütterung und Supplementation des Enzyms nicht zu finden waren, bestätigt sahen.

2.8.3 Laktierende Kühe

Der Einsatz von exogenen Enzympräparaten bei laktierenden Kühen war in der Regel mit positiven Effekten verbunden, auch wenn einige Ausnahmen zu nennen sind (Dhiman *et al.*, 2002; Sutton *et al.*, 2002; Vicini *et al.*, 2003). Die beobachteten Auswirkungen umfassten Änderungen in der Futteraufnahme und/oder Änderungen der Verdaulichkeit. Steigerungen in der Milchleistung oder in der Lebendmassezunahme bei Zugabe von Enzymen zu den Konzentrat-Anteilen der Ration waren dabei verbunden mit einer verbesserten Verdaulichkeit der Nährstoffe ohne Änderungen in der Futteraufnahme (Beauchemin *et al.*, 1999b; Bowman *et al.*, 2002; Knowlton *et al.*, 2002; Rode *et al.*, 1999; Titi, 2003; Yang *et al.*, 1999). In den erwähnten Studien wurde die Milchleistung im Zuge der Enzymsupplementation um 2-37 % gesteigert.

Andere Untersuchungen fanden eine gesteigerte Futteraufnahme ohne eine gleichzeitige Erhöhung der Milchleistung (Beauchemin *et al.*, 2000; Knowlton *et al.*, 2002). Auch die Zulage von exogenen Enzymen zum Grundfutteranteil der Ration führte zu einer gesteigerten Milchleistung (zwischen 6,7 und 15,9 %). Dies war entweder mit einer Steigerung der Futteraufnahme ohne Änderungen der Verdaulichkeit (Lewis *et al.*, 1999) oder ohne signifikante Änderungen der Futteraufnahme verbunden (Kung *et al.*, 2002; Kung *et al.*, 2000; Schingoethe *et al.*, 1999; Zheng *et al.*, 2000).

In einer kürzlich durchgeführten Studie untersuchten Elwakeel *et al.* (2007) sieben verschiedene fibrolytische Enzymmischungen (Fa. Saf Agri®; USA). In durchgeführten *in vitro* Studien fanden die Autoren eine gesteigerte „*in vitro dry matter disappearance*“ bei Behandlung der Substrate mit Enzymen, ohne dass eine Zunahme der Produktion flüchtiger Fettsäuren beobachtet wurde. Das in diesen Versuchen effektivste Präparat wurde zudem in einer sich anschließenden Studie bei 24 laktierenden Kühen eingesetzt. Hierbei wurde zusätzlich einer supplementierten Gruppe ein Hefepräparat (*Saccharomyces cerevisiae*) verabreicht. Insgesamt konnten Elwakeel *et al.* (2007) jedoch keinen Einfluss des Enzymeinsatzes auf die Laktationsleistung der Tiere feststellen. Als zu diskutierende Ursachen nannten die Autoren eine mögliche Wirkungslosigkeit der Enzyme *in vivo* aber auch eine Verringerung der Effektivität durch die gewählte Applikationsart und -dosis.

Beauchemin *et al.* (2000) beziehen sich in ihren Erläuterungen zur Wirkungsweise von exogenen Enzymen auf die „Hotel Theorie“: Präparate, welche die Verdaulichkeit erhöhen, ohne die Futteraufnahme zu beeinflussen, scheinen die Hydrolyse der Zellinhalte voran zu treiben, ohne die Strukturbestandteile maßgeblich abzubauen. Enzyme hingegen, welche in der Lage sind die Futteraufnahme zu steigern, ohne die Verdaulichkeit zu ändern, scheinen vornehmlich die Strukturbestandteile anzugreifen und abzubauen, was die Passagerate von Futterpartikeln aus dem Pansen heraus erhöht. Die Wirkungen von supplementierten Enzymen im Pansenmilieu spielen eine wichtige Rolle, wie eine Reihe von Studien an laktierenden Kühen (Beauchemin *et al.*, 2000; Jurkovich *et al.*, 2002; Sutton *et al.*, 2003;

Tricarico *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 1999) zeigen, welche insbesondere die Fermentation und die Passagerate in Abhängigkeit zur Enzymzugabe untersuchten.

DeFrain *et al.* (2005) untersuchten in ihrer Studie die Effekte einer Supplementation von α -Amylase auf Stoffwechselfparameter und Leistungen von Kühen in der Transitperiode. Die Kühe (n=24) erhielten das Enzym im Zeitraum von 3 Wochen vor der Geburt bis zum 21. Tag der Laktation. Die TM-Aufnahme in der 2. Woche a.p. sank in der supplementierten Gruppe in stärkerem Maße als in der Kontrolle. Nach der Geburt waren keine Unterschiede in der Futteraufnahme festzustellen. Bei der Untersuchung von Leberbiopsaten wurden keine Unterschiede im Fett- und Glycogengehalt zwischen den beiden Gruppen gefunden. Bei den Blutparametern konnten die Autoren antepartal signifikant höhere Konzentrationen von β -OH-Butyrat und NEFA in der Enzymgruppe feststellen. Postpartal war in dieser Tiergruppe die Tendenz für höhere Plasma Glucose Werte zu erkennen. Negative Folgen der a.p. stärker ausgeprägten verringerten Futteraufnahme sowie der erhöhten Konzentrationen an β -OH-Butyrat und NEFA konnten in der Laktation nicht festgestellt werden. Dies werteten die Autoren als Hinweis für positive Effekte der α -Amylase Supplementation nach einer entsprechenden Adaptationszeit der Versuchstiere. Bezüglich der Milchleistung waren die Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe minimal.

Die Zusammensetzung der Milchinhaltsstoffe ist in der Regel durch eine Verwendung von exogenen Enzymprodukten nicht verändert worden. Jedoch wird in einigen Studien von einer Konzentrationszunahme (Beauchemin *et al.*, 1999b; Bowman *et al.*, 2002; Schingoethe *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 1999; Zheng *et al.*, 2000) oder auch einer Konzentrationsabnahme (Fredeen und Mcqueen, 1993; Kung *et al.*, 2000; Lewis *et al.*, 1999; Rode *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2000) an Fett, Protein und Laktose bei supplementierten Milchkühen berichtet. Nach Rode (2006) lässt sich die Abnahme der Milchfettkonzentration durch folgende Hypothese erklären: Das Vorhandensein von trans-FS und konjugierter Linolsäure im Pansen führt dabei zu einer verminderten Milchfettkonzentration. Viele Pansenbakterien sind in der Lage, Fette abzubauen und sie teilweise zu trans-FS und konjugierter Linolsäure zu hydrogenisieren. Dies ist als ein Versuch der Selbsterhaltung zu sehen, der die FS weniger toxisch für die Mikroorganismen macht. Für eine vollständige Detoxifikation ist eine vollständige Sättigung der FS nötig. Zu der letzten Hydrogenisierung ist nur eine kleine Gruppe von Bakterien (*Butyrovibrio*) in der Lage, die so die trans-FS aus dem Pansen entfernen. Unter physiologischen Bedingungen ist das cis-9, trans-11 Isomer der konjugierten Linolsäure die vorherrschende konjugierte Linolsäure, die im Pansen gebildet wird. Wenn nun die Bedingungen des Pansenmilieus bestimmten Spezies von *Propionsäurebakterien* ein Wachstum ermöglichen (niedriger pH, im Pansen abbaubare Stärke), so sind diese für die Produktion von trans-10, cis-12 konjugierter Linolsäure verantwortlich. So lange nun die Spezies *Butyrovibrio* in ausreichender Anzahl zur Sättigung der konjugierten Linolsäure und trans-FS vorhanden sind, wird keine Abnahme der Milchfettkonzentration zu beobachten sein. Wenn jedoch die metabolische Aktivität dieser

Bakterien gefährdet ist, so sind auch Auswirkungen auf den Gehalt an Milchfett wahrscheinlich.

Wenn eingesetzte Enzympräparate eine Verringerung des pH-Wertes in der Pansenflüssigkeit hervorrufen, liegt eine Abnahme des Fettgehaltes der Milch nach dem oben genannten Mechanismus nahe.

2.8.3.1 Die Applikationsdosis

Die verwendete Dosis exogener Enzyme ist ein wichtiger Faktor für beobachtete Effekte bei laktierenden Kühen. Eine Reihe von Studien berichten von einer quadratischen Antwort auf eine gesteigerte Supplementationsdosis (Beauchemin *et al.*, 2000; Kung *et al.*, 2000; Lewis *et al.*, 1999; Tricarico *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 1999). So haben beispielsweise Lewis *et al.* (1999) und Kung *et al.* (2000) ein Cellulase/Xylanase-Gemisch bei Milchkühen eingesetzt (0 bis 5 ml/kg TM; zum Grundfutteranteil einer TMR- Ration 20 Minuten vor der Fütterung). Lewis *et al.* (1999) beobachteten eine Zunahme der TM-Aufnahme (\emptyset 7,9%), allerdings führte lediglich die Dosis von 2,5 ml/kg TM zu signifikanten Verbesserungen der Milchleistung (45.9 vs. 39.6 kg/d). In dem Versuch von Kung *et al.* (2000) produzierte die Gruppe mit niedrigen Enzymkonzentrationen (2 ml/kg TM) mehr Milch (39,5 kg/d) als die 5 ml/kg TM-Gruppe (36,2 kg/d) oder die Kontrollgruppe (37,0 kg/d), ohne dass eine Änderung der TM-Aufnahme zu beobachten war. Beide Studien berichteten von einer Abnahme des Milchfettgehaltes bei höheren Konzentrationen des eingesetzten Enzymgemisches. Lewis *et al.* (1999) nahmen an, dass die Tiere der 2,5 ml/kg TM-Gruppe Körperreserven für die hohe Milchleistung mobilisierten und dass die anderen Enzym-Behandlungsgruppen die zusätzliche Energie aus der höheren TM-Aufnahme für die Auffüllung der Körperreserven nutzten.

Yang *et al.* (1999) berichteten, dass die Milchleistung bei fistulierten Holstein-Kühen (74 Tage in Milch) um 7% gesteigert wurde bei Verfütterung einer TMR mit Zulage eines Enzyms (Promote[®], Fa. Biovance Technologies) in einer Dosis von 2 g/kg TM. Dabei war bezüglich der Milchproduktion kein Unterschied bei der Supplementierung der Luzerneheu-Würfel (25,6 kg/d) oder des Gerstenkonzentrat-Anteils zu beobachten (25,3 kg/d). Die Milchleistung bei einer Enzymzulage von 1 ml/kg TM sowie der Kontrollgruppe war niedriger (24,6 bzw. 23,7 kg/d). Die Verdaulichkeiten der organischen Substanz und der NDF im Pansen wurde erhöht (3,7 bzw. 11%) und schien - ebenso wie die Stärke-, Protein- und ADF-Verdaulichkeit betreffend - bei höheren Dosierungen des Enzymgemisches größer zu sein. Die Zunahme der mikrobiellen Proteinsynthese, der Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren und der Kolonisierung der enzymbehandelten Heuwürfel (nach 12-stündiger Inkubation) legen nahe, dass die Zunahme der Milchleistung eher durch die ruminalen Effekte der Enzyme als durch Änderungen in der Futteraufnahme hervorgerufen wurden. Im Gegensatz dazu fanden Beauchemin *et al.* (1999b) eine gesteigerte intestinale Verdauung, aber sie bestätigten, dass

die beobachteten Effekte eher auf die Dosis als auf die Methode der Applikation zurückzuführen sind und betonten die Wichtigkeit zwischen der zu verwendenden Dosierung eines Enzyms und der Zusammensetzung der verfütterten Ration.

Beauchemin *et al.* (2000) untersuchten ebenfalls die Effekte unterschiedlicher Applikationsmengen eines Enzymproduktes (Natugrain 33-L[®], Fa. BASF; hauptsächlich β -Glucanase-, Xylanase- und Endocellulase-Aktivitäten). Dabei verwendeten sie 0, 1.22 und 3.67 ml des Präparates pro kg TM TMR, welches 6 multiparen Kühen in der Hochlaktation verabreicht wurde. Die TM-Aufnahme wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe bei Verabreichung der niedrigen und der hohen Enzymkonzentration gesteigert (7,5 bzw. 5,2 %). Die Verdaulichkeit der organischen Substanz wurde bei der niedrigen Enzymkonzentration erhöht (68%) im Vergleich zur Kontrolle (66%) oder zur hohen Enzymkonzentration (66%). Die NDF-Verdaulichkeit wurde bei hoher Enzymkonzentration signifikant herabgesetzt. Die Wiederkauaktivität war in den Enzym-behandelten Gruppen niedriger, was auf einen Vorverdauungseffekt vor der Fütterung hindeutet. Des Weiteren war eine Tendenz für einen niedrigeren ruminalen pH bei Enzymsupplementation zu finden. Trotz der erhobenen Befunde erfolgte keine Steigerung der Milchleistung bzw. keine Änderung der Zusammensetzung der Milch; möglicherweise hatten die Versuchstiere eine positive Energiebilanz und verwendeten die zusätzliche Energie eher, um Körperreserven aufzufüllen. Auch diese Studie der Autoren unterstützt die Annahme, dass positive Effekte von exogenen Enzymen vor allem auf ihre Wirkungen im Pansen zurückzuführen sind.

2.8.3.2 Das Laktationsstadium

Es bleibt festzuhalten, dass die zu beobachtenden Effekte beim Einsatz exogener Enzyme (ähnlich den Ergebnissen bei Schafen) ausgeprägter sind, wenn Einschränkungen der möglichen Leistungsfähigkeit der Tiere vorhanden sind, wie zum Beispiel eine negative Energiebilanz zu Beginn der Laktation oder eine niedrige Verdaulichkeit des eingesetzten Futters. Knowlton *et al.* (2002) untersuchten den Einfluss des Laktationsstadiums beim Einsatz eines Cellulase-Produktes (Fa. Loveland Industries, USA), welches zum einen Tieren zu Beginn der Laktation (n=6, 30 Tage in Milch) und Kühen in fortgeschrittener Laktation (n=6, 194 Tage in Milch) verabreicht wurde. Bei den Kühen im frühen Laktationsstadium wurde die TM-Aufnahme bei der Enzymzulage um 4,7 % im Vergleich zur Kontrolle erhöht. Bei den untersuchten Kühen im späten Laktationsstadium (194 Tage in Milch) war kein Unterschied in der TM-Aufnahme zu entdecken. Die NDF-Verdaulichkeit zeigte zu Laktationsbeginn keine Unterschiede (44,9 bzw. 44,8 %), im späteren Laktationsabschnitt wurde die NDF-Verdaulichkeit hingegen bei der Supplementation des Enzyms im Vergleich zur Kontrolle erhöht (40,5 % vs. 37,8 %). Dies könnte darauf hinweisen, dass der Einsatz des exogenen Enzyms die Einschränkungen in der Verdaulichkeit durch einen größeren Anteil an Grundfutter in der Ration (im späteren

Laktationsstadium) gemildert hat. Bezüglich der Milchleistung bzw. der Milchinhaltsstoffe waren keine signifikanten Unterschiede zu beobachten, auch wenn eine Tendenz für eine höhere tägliche Milchmenge in der Enzymgruppe in der frühen Laktationsphase im Vergleich zur Kontrolle gefunden wurde. Knowlton *et al.* (2002) nahmen an, dass die Unterschiede zwischen den Effekten zu Laktationsbeginn und dem späteren Abschnitt der Laktation auf den Zusammenhang zwischen Rohfaser-/Struktur-Verdaulichkeit und der Futteraufnahme zurückzuführen sind. Behandlungen, welche die abbaubare Fraktion der TM- und Faserbestandteile erhöhen, könnten demnach zu einer größeren TM-Aufnahme führen, wenn die mechanische Füllung des Pansens die Futteraufnahme einschränkt, wie dies zu Laktationsbeginn der Fall sein kann (Dado und Allen, 1995).

Schingoethe *et al.* (1999) untersuchten den Einfluss eines Cellulase/Xylanase-Gemisches bei Kühen in früher (ersten 100 Tage) oder späterer Laktation (>178 Tage in Milch). Dabei wurde das Präparat in einer Dosierung von 0 bis 1.5 ml/kg TM unmittelbar vor der Fütterung auf eine TMR aufgebracht. Die Supplementierung führte zu einer Zunahme der Milchleistung (3,5 % FCM) im Vergleich zur Kontrolle (28,3 vs. 25,4 kg/d). Außerdem war ein höherer Gehalt der Milch an Fett (3,86 vs. 3,70%) und Protein (3,39 vs. 3,28%) ohne eine Veränderung der TM-Aufnahme zu beobachten. Diese Effekte waren bei Tieren im späteren Laktationsstadium (>178 Tage in Milch) nicht festzustellen. Jurkovich *et al.* (2002) sahen in ihren Untersuchungen eine 5-10 %-ige Zunahme der Milchleistung und geringere Verluste an Körperkondition, und Yang *et al.* (1999) beobachteten eine höhere ruminale NDF-Verdaulichkeit bei Kühen in früher Laktation, denen Enzymgemische mit Cellulase- und Xylanase-Aktivitäten verabreicht worden waren.

Nicht alle Studien an Tieren in der Frühlaktation berichten von positiven Effekten im Einsatz von exogenen Enzymen. Dhimann *et al.* (2002), Vincini *et al.* (2003) und Sutton *et al.* (2002) fanden keinen Einfluss auf die Futteraufnahme, die Milchleistung oder –zusammensetzung und das Gewicht der Tiere. Des Weiteren beobachteten Sutton *et al.* (2002) Abnahmen der Verdaulichkeiten von NDF und ADF.

Bezüglich des Zeitpunktes eines Einsatzes exogener Enzyme schlugen Zheng *et al.* (2000) den Beginn der Supplementation um die Geburt vor. Hier fanden die Autoren eine höhere Milchleistung (37,0 kg/d) als bei einem späteren Einsatz p. p. (34,4 kg/d) oder dem Verzicht auf eine Supplementierung (32,9 kg/d). Eine Supplementation a.p. brachte dabei keinen weiteren Vorteil. Unterschiede in der TM-Aufnahme waren hier nicht zu verzeichnen.

2.8.3.3 Zusammenfassung: Einsatz exogener Enzyme bei Milchkühen

Der Einsatz von exogenen Enzymen bei laktierenden Kühen führte zum Teil zu deutlichen Steigerungen der Milchleistung im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Damit einhergehend wurden Zunahmen in der Futteraufnahme und/oder der Verdaulichkeit festgestellt. Die Effekte der Enzyme im Pansen scheinen maßgeblich für die Leistungssteigerungen verantwortlich zu sein. Die Milchinhaltsstoffe sind in der Regel nicht von Änderungen

betroffen, wobei eine Abnahme des Milchfettgehaltes bei Rationen mit niedrigen Anteilen an strukturwirksamer Rohfaser beobachtet wurde.

Die Ergebnisse der zahlreichen Studien sind variabel, jedoch kann man feststellen, dass die Applikationsdosis eine wichtige Rolle spielt und dass auch Überdosierungen von exogenen Enzymen möglich sind. Positive Effekte sind bei Kühen zu Beginn der Laktation deutlicher ausgeprägt, so dass ein Einsatz entsprechender Präparate um die Geburt sinnvoll erscheint.

2.9 Mögliche Einflussfaktoren beim Einsatz exogener Enzyme

2.9.1 Art der Applikation

Kommerzielle Enzyme sind verschiedenen Anteilen von Futtermitteln beigefügt worden. Dazu zählen Grundfutter, Konzentrate, Prämixe, Ergänzungsfuttermittel, die TMR oder auch eine direkte Infusion in den Pansen der Tiere. Durch die Zugabe der Enzyme zum Futter kann die gewünschte Dosis appliziert werden, und so Über- oder Unterdosierungen vermieden werden. Außerdem kann so eine gleichmäßige Verteilung sichergestellt und die Zeit zwischen dem Aufbringen des Präparates und Aufnahme durch die Tiere bestimmt werden. Die Kontrolle für eine korrekte Applikation kann so über die Analyse von Futterproben erfolgen (McAllister *et al.*, 1999; Steen, 2001).

Bowman *et al.* (2002) verabreichten ein Cellulase/Xylanase-Gemisch an den Konzentratanteil einer TMR, an das Ergänzungsfuttermittel vor der Pelletierung oder an den Prämix-Anteil monatlich bei der Herstellung. Die untersuchten Kühe befanden sich im mittleren Laktationsdrittel. Dabei führte die Enzymzugabe zum Konzentrat zu einer leichten Steigerung der Milchleistung und einer leichten Erhöhung des Fett- und Proteingehaltes der Milch im Vergleich zu den anderen Applikationen und zur Kontrolle. Des Weiteren waren die Verdaulichkeiten von Trockenmasse (73%), organischer Substanz (74%), NDF und ADF (beide 56%) höher als in der Kontrollgruppe (65, 67, 44 und 44 %) und den anderen Behandlungen. Unterschiede in der Trockenmasseaufnahme waren nicht fest zu stellen. Diese Steigerung der Verdaulichkeit ist vermutlich auf Effekte der Enzyme vor der Fütterung zurückzuführen, da die hydrolytische Kapazität der Pansenflüssigkeit bei Inkubation mit unbehandelter TMR und Zugabe von Enzymen nicht gesteigert wurde. Die Autoren nahmen an, dass es bei dem Pellettierungsvorgang aufgrund der Wärme (bis 94° C) zu einer Denaturierung von Enzymen kam und daher diese Applikationsart keine vergleichbaren Effekte mit sich brachte. Yang *et al.* (2000) verglichen die Supplementation einer Cellulase/Xylanase-Lösung, die täglich zur TMR unmittelbar vor der Fütterung oder zu den Konzentraten einmal im Monat bei der Herstellung hinzu gegeben wurde. Die Trockenmasseverdaulichkeit bei Applikation der Enzyme zum Konzentrat wurde gesteigert (67%) im Vergleich zur täglichen Verabreichung mit der TMR (66%) oder zur Kontrolle (64%), ohne dabei Änderungen in der Futteraufnahme zu beobachten. Als eine Folge dieser

Effekte ist die höhere Milchleistung bei einer Enzym-Supplementierung der Konzentrate (37 kg/d) im Vergleich zur Applikation zur TMR oder zur Kontrolle (beide 35 kg/d) zu beurteilen. Es kann angenommen werden, dass exogene Enzyme zu einem umfangreichen Bestandteil der Futtermischung zugefügt werden sollten und dass die Applikation zu den Konzentraten positive Effekte erzielen kann. Die Anwendung von Enzympräparaten bei Rationsbestandteilen vor der Fütterung und damit vor dem Kontakt mit den endogenen Enzymen im Pansen könnte die Enzymaktivitäten vor einer schnellen Inaktivierung schützen und so die Zeitspanne für eine effektive Wirkung verlängern, ähnlich wie es Morgavi *et al.* (2000b) durch die Zugabe von bovinem Serum-Albumin oder pflanzlichen Proteinen zu exogenen Enzymen beschrieben haben.

2.9.2 Die Applikationsmenge

Die Menge der supplementierten Enzyme ist wichtig für das Ausmaß der zu erzielenden Effekte und dafür, ob diese positiv, neutral oder negativ sind. Quadratische Beziehungen (sowohl positive als auch negative) zur Dosis exogener Enzyme sind beobachtet worden für die Anzahl von Bakterien und Protozoen (Hristov *et al.*, 2000; Nsereko *et al.*, 2002), die Adhäsionskapazität von Bakterien (Morgavi *et al.*, 2004), die ruminale $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration (Hristov *et al.*, 2000), die Verdaulichkeit der Trockenmasse (Tirado-Estrada *et al.*, 2001), die Verdaulichkeit von Rohfaser (Dean *et al.*, 2003; Krueger *et al.*, 2003a,b; Tirado-Estrada *et al.*, 2001) und Rohprotein (Richardson *et al.*, 1990), die Trockenmasseaufnahme (McAllister *et al.*, 1999; Pritchard *et al.*, 1996), die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme (Beauchemin *et al.*, 1995) und die Futtermittelverwertung (McAllister *et al.*, 1999).

Ein Beispiel für den Zusammenhang zwischen beobachteten Effekten und der Applikationsdosis ist die von McAllister *et al.* (1999) an Mastrindern durchgeführte Studie. Sie verabreichten ein Cellulase/Xylanase-Gemisch in unterschiedlichen Konzentrationen (0, 1.25, 3.5 und 5.0 ml/kg TMR) und beobachteten einen quadratischen Anstieg der Trockenmasseaufnahme bei ansteigender Dosis in den ersten 56 Tagen der Fütterung. Bis zum 120. Tag beobachteten die Autoren weiterhin einen linearen Anstieg der TM-Aufnahme ($p=0,09$). Bei der Applikation von 5.0 ml/kg TMR war ein Anstieg der täglichen Gewichtszunahme im Vergleich zur Kontrolle zu verzeichnen (1.16 vs. 0.94 kg/d), und es wurde ein quadratischer Zusammenhang zwischen der Enzymdosis und der Futtermittelverwertung in den ersten 56 Tagen beobachtet (5 ml: 6.02; 3.5 ml: 5.95; Kontrolle: 7.28 kg TM/kg Zunahme).

Nach Beauchemin *et al.* (1995) beruhen quadratische Verbesserungen in der Leistung der Tiere bei niedrigen Enzymdosierungen auf einer besseren Verdaulichkeit von Faserbestandteilen; bei mittlerer Dosis auf einer gesteigerten TM-Aufnahme. Verminderte Leistungen gehen nach Nsereko *et al.* (2002) und Wang und McAllister (2002) auf eingeschränkte Anheftungsmöglichkeiten für die Mikroorganismen des Pansens oder laut

Wallace *et al.* (2001) auf übermäßig ausgeprägte Modifikationen von Futterbestandteilen vor der Fütterung zurück.

Bei ihren *in vitro* Versuchen beobachteten Morgavi *et al.* (2004) bei hohen Applikationsdosen exogener Enzyme zu reiner kristalliner Cellulose eine zunehmende Verminderung der bakteriellen Besiedlung und deuteten dies als Konkurrenz zwischen Enzymen und Mikroorganismen um Bindungsstellen.

2.9.3 Zeitpunkt der Applikation

Für effektive Wirkungen exogener Enzyme ist die Bildung eines stabilen Enzym-Substrat-Komplexes von Bedeutung. So hat sich gezeigt, dass eine direkte Infusion in den Pansen weniger effektiv ist als eine Applikation auf das Futter. Lewis *et al.* (1996) verglichen die intraruminale Infusion eines fibrolytischen Enzyms (Grasszyme[®], Fa. Finnfeeds International) mit der Applikation über das Grundfutter (0 bzw. 24 Stunden vor der Fütterung). Die Gesamtverdaulichkeit (für TM, NDF und ADF) wurde bei Supplementation des Grundfutters (0 und 24 Stunden vor der Fütterung: 64 % TM-Verdaulichkeit) erhöht ($p=0,1$) im Vergleich zur Infusion in den Pansen oder zur Kontrollgruppe (beide 62 % TM-Verdaulichkeit). Hristov *et al.* (1998a; 2000) berichteten, dass eine intraruminale oder abosomale Gabe einer Cellulase/Xylanase-Lösung keinen Einfluss auf die Verdaulichkeiten von TM, NDF, Rohprotein oder die Trockenmasseaufnahme hat. McAllister *et al.* (1999) berichteten außerdem von einer verminderten Verdaulichkeit von TM und NDF bei intraruminaler Infusion von Enzymen im Vergleich zur Applikation über das Grundfutter. Im Gegensatz dazu beobachteten Sutton *et al.* (2003), dass eine direkte Infusion von Enzymen eine größere ruminale Verdaulichkeit der NDF bewirkte als die Applikation der gleichen Enzymmenge mit der TMR.

Hong *et al.* (2003) berichteten, dass bei zunehmender Inkubationszeit von Enzymen mit dem Futtersubstrat (0, 1, 12, 24 Stunden) auch der abbaubare Anteil an TM und NDF zunahm. Dabei schien die Dosierung der Enzyme eine größere Rolle zu spielen als die Inkubationszeit, was darauf hindeutet, dass hydrolytische Effekte vor der Fütterung eher mit der eingesetzten Enzymmenge als mit der Inkubationszeit zusammenhängen, wenn diese über eine Stunde hinausgeht.

Es bleibt festzuhalten, dass eine Applikation von Enzymen über das Futter effektiver zu sein scheint als eine Infusion in den Pansen und dass eine Inkubationszeit von 1 bis 2 Stunden ausreichend erscheint, um einen stabilen Enzym-Substrat-Komplex zu bilden als Voraussetzung für eine effektive Wirkung.

2.9.4 Abstimmung von Enzymaktivitäten auf die Rationszusammensetzung

Burroughs *et al.* (1960) erkannten bereits die Wichtigkeit für eine Abstimmung eingesetzter Enzympräparate und der Zusammensetzung der Ration, als sie bessere Ergebnisse mit Agrozyme[®] bei einer grundfutterreichen- als bei einer konzentratreichen Ration erzielten. Es konnte nachgewiesen werden, dass im Pansen vorkommende Pilze proteolytische und amylolytische Aktivitäten bei Kultivierung auf verschiedenen Getreiden produzieren; dabei sind die relative Menge und das Gleichgewicht der einzelnen Aktivitäten abhängig vom Pilzstamm und dem spezifischen Getreide (Yanke *et al.*, 1993). Daher ist nahe liegend, dass mit Hilfe von Pilzen hergestellte Enzympräparate mehr oder weniger gut zu der jeweils eingesetzten Ration passen und somit die auftretenden Effekte vom Produktionsorganismus und Fermentationsmedium beeinflusst werden (Wang und McAllister, 2002). Der Einsatz von exogenen enzymatischen Aktivitäten beim Geflügel wird sehr genau auf die verwendeten spezifischen Getreide abgestimmt (Bedford, 1995). Eine entsprechende Verwendung und Abstimmung von Aktivitäten beim Wiederkäuer wurde *in vitro* mit der Freisetzung von reduzierenden Zuckern (Hristov *et al.*, 1996; Yu *et al.*, 2001) sowie des Faserabbaus (Colombatto *et al.*, 2003b) untersucht. Des Weiteren wurden die Gesamtverdaulichkeit (Iwassa, 1997; Krause *et al.*, 1997; Krause *et al.*, 1998; Pinos-Rodriguez *et al.*, 2002), die durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme bei auf Grundfutter basierenden (Austin *et al.*, 2003; Beauchemin *et al.*, 1995; Michal, 1996; Pritchard *et al.*, 1996) und konzentrat-reichen Rationen (Wang *et al.*, 2003) sowie die Futterverwertung (Beauchemin *et al.*, 1997; Pritchard *et al.*, 1996) untersucht. Wichtige Erkenntnisse aus diesen Studien sind unter anderem:

- dass es zu einer verbesserten Hydrolyse pflanzlicher Zellwände kommen kann, wenn komplementäre Aktivitäten eingesetzt werden, die z.B. den Abbau limitierende Bestandteile wie Ferulasäure (Yu *et al.*, 2001) oder strukturelle Barrieren entfernen (Colombatto *et al.*, 2003b).
- Der verbesserte Abbau von Bestandteilen des Futtersubstrates ist gebunden an spezifische Enzymaktivitäten, wie z.B. Xylanase (Colombatto *et al.*, 2003b; Hristov *et al.*, 1996).
- Die Wirkungsweise der Enzyme ist abhängig von der Wahl des Produktes und der Art des Grundfutters (Beauchemin *et al.*, 1995; Colombatto *et al.*, 2003b).
- Und schließlich müssen Enzymmischungen an unterschiedliche Zusammensetzungen von Rationen angepasst werden, um positive Effekte in den Produktionsparametern zu erzielen (Austin *et al.*, 2003; Beauchemin *et al.*, 1997; Colombatto *et al.*, 2003b; Iwassa, 1997; Krause *et al.*, 1997; Krause *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2003).

In vitro Versuche von Nsereko *et al.* (2000b) untersuchten 5 verschiedene Enzymprodukte (hergestellt über *Trichoderma spp.*), die sie mit Luzerneheu inkubierten. Dabei stellten die Autoren fest, dass sich die Menge und die Zusammensetzung der freigesetzten Zucker (Glukose, Xylose, Arabinose, Galaktose und Mannose) zwischen den Produkten

unterschieden haben, was auf eine unterschiedliche Wirksamkeit und unterschiedliche Angriffspunkte an dem selben Substrat hinweist.

2.9.5 Feuchtegehalt der Substrate

Beauchemin *et al.* (2004b) nahmen an, dass die Applikation von Enzymen zu trockenem Futter wie Heu oder Getreide beständigere Ergebnisse erzielen könnte als die Zugabe zu feuchtem Futter, wie z.B. Silagen. Die Autoren untersuchten in einer früheren Studie (1995) die Applikation einer Enzymmischung (Xylanase B[®], Fa. Biovance Technologies; und Spezyme CP[®], Fa. Genecor) zu Luzerneheu (91% TM, 19% RP), Wiesenlieschgrasheu (90 % TM, 14% RP) und Gerstensilage (30 % TM, 11% RP). Die Enzymmischung wurde beim Heu vor der Würfelherstellung und bei der Silage unmittelbar vor der Fütterung zugefügt. Beim Einsatz des Heus waren die Effekte der Supplementation ausgeprägter bezüglich der durchschnittlichen täglichen Gewichtszunahme als bei Silagefütterung, bei der kein Einfluss auf die TM-Aufnahme, die tägliche Gewichtszunahme und die Futterverwertung zu beobachten war. Die Unterschiede zwischen den Behandlungen könnten in diesem Fall mit dem unterschiedlichen Feuchtegehalt, der Applikationsart oder dem unterschiedlichen Rohproteingehalt zusammen hängen. Bei einer Supplementierung von Silagen bei Schafen (McAllister *et al.*, 1999; Sheperd und Kung, 1994) und Milchkühen (Sutton *et al.*, 2002) sind in der Regel keine positiven Effekte in Bezug auf die Fermentation der Silage, die Verdauung oder Produktionsparameter beobachtet worden. Es gibt aber auch Untersuchungen, die von positiven Effekten bei einer Supplementierung von Silage bei Lämmern (Fredeen und Mcqueen, 1993), Milchkühen (Stokes, 1992) und Mastrindern (Rovics und Ely, 1962) berichten. Es wird davon ausgegangen, dass es inhibitorische Faktoren in Silagen gibt, welche die weniger ausgeprägten Effekte bedingen. Nsereko *et al.* (2000a) untersuchten Auszüge von 14 verschiedenen Gerstensilagen auf die relative *in vitro* Aktivität eines erfolgreich eingesetzten Enzymproduktes (Promote[®]). Alle untersuchten Auszüge führten zu einer Hemmung der Xylanase (23 – 51 %) und der Amylase (30 – 50 %); die Cellulase wurde nicht oder nur kaum inhibiert.

2.9.6 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Mikrobiell hergestellte Enzyme werden in vielen Bereichen der Industrie und in der landwirtschaftlichen Produktion genutzt. Exogene Enzyme, die in der Tierproduktion eingesetzt werden, sind oft Formulierungen mit unterschiedlichen enzymatischen Aktivitäten. Werden Konzentrate (Getreide) den Rationen für Wiederkäuer zugefügt, so lässt sich die Futter- und Energieaufnahme steigern, und die mikrobielle Proteinbiosynthese wird vorangetrieben. Es ist aber auch möglich, dass die Zusammensetzung der mikrobiellen Gesamtpopulation verändert wird mit der Folge einer eingeschränkten fibrolytischen Aktivität, möglicherweise der Entstehung einer Acidose und einer verminderten Futteraufnahme.

Dieses Problem stellt ein mögliches Argument für den Einsatz und die Entwicklung exogener Enzyme dar, und einige *in vitro* Studien konnten zeigen, dass durch den Einsatz von Enzymprodukten die Abnahme in der Verdauungskapazität von Faserbestandteilen unter niedrigen pH- Werten moderater ausfällt.

Die Wirkungsweise exogener Enzyme ist komplex und bis jetzt nicht vollständig geklärt. Die Vielfalt der Produkte, Nachweismethoden und Fütterungssituationen trägt einen Anteil daran. Es ist heute davon auszugehen, dass effektiv eingesetzte Enzyme positive Effekte hauptsächlich vor der Fütterung und im Pansen hervorrufen. Effekte vor der Fütterung im Sinne einer „Vor-Verdauung“ stellen die Aufschlüsselung von Strukturbestandteilen und die Freisetzung löslicher Stoffe dar, die zu einer besseren mikrobiellen Kolonisierung der Substrate und Verdauung im Pansen führen. Der Pansen stellt den Hauptwirkungsort exogener Enzyme dar, die im Pansen für Stunden wirksam bleiben; dabei verlängert die Bindung der Enzyme an die Futterpartikel ihre Überlebens- und Verweilzeit. Im Pansen bewirken Enzyme eine Zunahme der hydrolytischen Kapazität, welche auf <15% der endogenen Kapazität geschätzt wird. Als bedeutender werden jedoch eine verbesserte mikrobielle Kolonisation, eine Stimulierung von fibrolytischen Bakterien und weiterer Mikroorganismen sowie synergistische Wechselwirkungen mit- und Stimulierung von endogenen Enzymen im Pansen bewertet. Diese Veränderungen resultieren in einer Zunahme der hydrolytischen Gesamtkapazität des Pansens, was sich in einer Vergrößerung des Anteils abbaubarer Substrate und in einer Zunahme der abbaubaren Menge der Substrate äußert.

Bezüglich der Produktionsparameter bei Schafen und Rindern sind die Ergebnisse variabel. Positive Effekte durch exogene Enzyme bei Schafen sind selten und dann zu finden, wenn Einschränkungen in der Verdauung vorlagen, wie z.B. eine Ration mit geringer Verdaulichkeit. Versuche mit Rindern in den 1960er Jahren sind zum Teil viel versprechend, aber in den Ergebnissen variabel. Aktuellere Studien konnten signifikante Verbesserungen bei Mastrindern bezüglich täglicher Zunahmen und Futterverwertung zeigen; es gibt jedoch auch Untersuchungen, bei denen ein Einsatz exogener Enzyme keine oder gar negative Effekte mit sich brachte.

Der Einsatz bei Milchkühen führte teilweise zu signifikanten Steigerungen der Milchleistung, welche mit Zunahmen der Futteraufnahme und/oder der Verdaulichkeiten verbunden war. Die Zusammensetzung der Milchhaltsstoffe ist grundsätzlich nicht beeinflusst worden, auch wenn der Einsatz von supplementierten Enzymen zu einer stärkeren Abnahme des Milchfettgehaltes bei einer rohfaserarmeren Ration führen kann. Kühe zu Beginn der Laktation zeigen deutlicher ausgeprägte Effekte, was möglicherweise auf die negative Energiebalance zurück zu führen ist.

Die Zusammensetzung der enzymatischen Aktivitäten, die Methode, der Zeitpunkt und die Dosis der Applikation sowie die Komplementarität mit der Futtermischung sind Faktoren, welche die Variabilität in den Ergebnissen der verschiedenen Studien bedingen. Es scheint

insgesamt sinnvoll, Enzyme einem umfangreichen und vorzugsweise trockenen Teil der Ration mit einer ausreichenden Inkubationszeit für die Bildung eines Enzym-Substrat-Komplexes beizufügen. Dabei sollten eine Unter- oder Überdosierung vermieden werden. Und schließlich erscheint der Einsatz exogener Enzyme sinnvoll unter Bedingungen, welche die maximale Produktionskapazität einschränken, wie z.B. eine schlechte Verdaulichkeit der Ration an sich oder eine negative Energiebalance.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die möglichen Einflüsse von zwei kommerziellen Enzympräparaten (einer α -Amylase und einer Cellulase; Firmen Novozymes und DSM Nutritional Products) auf einer Milchviehanlage unter Praxisbedingungen an einer großen Anzahl von Tieren (416 Kühe) zu untersuchen. Dabei waren insbesondere die Effekte der Kombination der zwei Enzyme, die Applikationsart (Aufsprühen auf die TMR unmittelbar vor der Fütterung) und die Supplementationsdauer (171 Tage pro Tier) von Interesse. Die Cellulase wurde vornehmlich eingesetzt, um die fibrolytische Kapazität des Pansens zu erhöhen. Die Supplementation der Amylase hatte zum Ziel, die Verdauung von Stärke effizienter zu gestalten, was im postruminalen Verdauungstrakt (ByPass-Stärke) von Interesse sein könnte. Der Beobachtungszeitraum begann mit der Trockensteher-Phase 2 (3 Wochen a.p.) und endete nach 150 Tagen in der Laktation. Als Leistungsparameter zur Beurteilung von möglichen Effekten wurden neben der täglichen Milchmenge und der Zusammensetzung der Milchhaltsstoffe (monatlich) auch die Rückenfettdicke (RFD) im Laktationsverlauf gemessen, ausgewählte Blutparameter analysiert (Bilirubin, Cholesterol, Harnstoff, AST, BHB, NEFA) sowie die Fruchtbarkeitskennzahlen und die Inzidenz ausgewählter Krankheiten ermittelt. Dabei erhielten 209 Färsen und Kühe eine Enzymsupplementierung der TMR, 207 Tiere fungierten als Kontrolle.

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere, Haltung und Fütterung

Die vorliegenden Untersuchungen wurden von Anfang Januar bis Ende Dezember 2006 in der Milchviehanlage Becker, Jäkel, Seever GbR in Schwabhausen/Thüringen durchgeführt. In dieser MVA sind 1200 Milchkühe, 300 Jungkühe (Eigenaufzucht und Zukauf) sowie 140 Kälber untergebracht. Es handelt sich dabei um einen kontrollierten BHV-1 Impf- Bestand. Die Milchleistung lag 2005 im Jahresmittel bei 9500 kg Milch/Kuh (Milchinhaltstoffe 4,2 % Fett; 3,3 % Eiweiß). Es wurden insgesamt 416 Tiere der Rasse „Schwarzbuntes Milchrind“ mit Einkreuzung „Holstein-Frisian“ erfasst und beprobt, wobei es sich dabei um 278 Kühe und 138 Färsen handelte. Nach der Abkalbung werden die Färsen im Folgenden als Jungkühe bezeichnet.

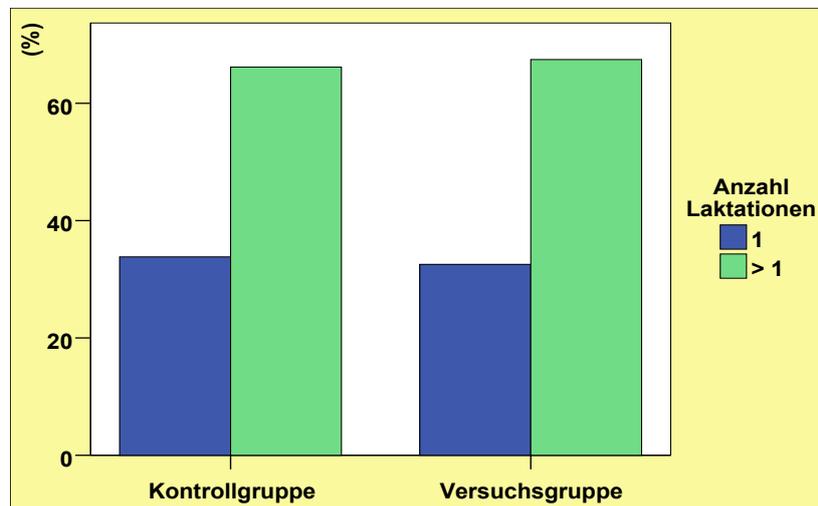


Abbildung 2 Zusammensetzung (%) der Gruppen bezüglich der Laktationsnummer

Die Einteilung der Tiere in die Versuchsgruppe (mit Enzymsupplementierung) bzw. in die Kontrollgruppe erfolgte mit der Geburt des Kalbes. Der Zuteilung ging eine klinische Allgemeinuntersuchung voraus, um Tiere mit schwerwiegenden Erkrankungen von vornherein aus dem Versuch auszuschließen. Die Jungkühe wurden nach ihrer Abkalbung abwechselnd der Versuchs- bzw. Kontrollgruppe zugeordnet. Die Kühe wurden sowohl nach der Laktationsnummer, als auch nach der 305-Tage Milchleistung der vorhergehenden Laktationsperiode zur Versuchs- oder Kontrollgruppe zugeteilt. Dabei wurden Tiere mit Milchmengen ± 250 kg/305 Tage als gleichwertig beurteilt.

Zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe gab es keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Anzahl der Jungkühe und der Anzahl der Kühe mit mehreren vorangegangenen Laktationen (exakter Test nach Fisher; $p=0,84$). Auch die

durchschnittliche Anzahl der vorangegangenen Laktationen (Kontroll- vs. Versuchsgruppe = 2,41 vs. 2,44); sowie die Verteilung der Tiere bezogen auf die jeweilige Laktationsperiode war in beiden Gruppen annähernd gleich. Ein Vergleich der erbrachten 305-Tage Milchleistungen in der vorausgegangenen Laktation zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe ergab keinen signifikanten Unterschied, so dass beide Gruppen in der zu erwartenden Größenordnung der Milchproduktion als gleichwertig einzustufen waren.

Tabelle 1 Anzahl der Tiere in den einzelnen Laktationsperioden

Laktationsperiode	Versuchsgruppe (n=209)	Kontrollgruppe (n=207)
1	68	70
2	59	54
3	33	33
4	31	34
5	11	12
6	5	3
7	1	1
8	1	-

Die Kühe wurden in Gruppen zu ca. 50 Tieren im Liegeboxenlaufstall mit Spaltenboden gehalten und über eine computergesteuerte Hochbandfütterung mit einer totalen Mischration (TMR) acht- bis zehnmal pro Tag gefüttert. Abhängig vom Laktationsstadium wurden fünf verschiedene Rationen verabreicht.

Die Zusammensetzung der unterschiedlichen Rationen ist der **Tab. 2** zu entnehmen. Tragende Färsen erhielten die gleiche Ration wie die Trockensteher-1 Gruppe. Zusätzlich wurde einmal pro Monat eine Futterprobe entnommen und zur Analyse an das Analytiklabor für Landwirtschaft und Umwelt, Bgg Deutschland GmbH, Parchim, gesandt (**Tab. 3-5**). Die Wasseraufnahme der Tiere erfolgte *ad libitum* über Selbsttränkeautomaten.

Tabelle 2 Tagesrationen in den verschiedenen Produktionsgruppen

Tagesrations-Planung	1. Laktationsmonat	2. – 9. Laktationsmonat	6. – 11. Laktationsmonat	Trocken-Steher-1 (8.-4. Wo a.p.)	Trocken-Steher-2 (3.-0. Wo a.p.)
LM (kg)	620	630	650	660	680
Fett (%)	3,90	4,00	4,50		
Eiweiß (%)	3,20	3,30	3,60		
Soll-Milch-Leistung (kg)	30,42	37,26	26,20		
Futtermittel (kg)					
Heu (1.Schnitt)	2,50				3,00
Weizenstroh			0,80	1,20	
Maissilage 1	7,00	5,00			8,00
Maissilage 2	4,00			5,00	4,00
GPS		4,00	6,00	6,00	4,00
MPAAKT	12,00	30,00	30,00	17,00	
LKS	2,00	3,00			1,30
SWMT	3,35	4,50	2,70		1,50
Rapsextr.-schrot	1,00	1,35	2,00	1,50	0,50
AGF 02/06	2,00	1,80	1,00		
Rapskuchen	1,30	1,35	1,00		0,30
Elitemehl					1,00
Propylenglykol	0,25				0,17
Summe (kg)	35,40	51,00	43,50	30,70	23,77
Inhaltsstoffe					
TM (kg)	17,96	22,37	18,58	11,98	11,70
Stärke (g)	3425,57	4567,97	2934,29	1767,20	2268,99
Zucker (g)	818,84	1169,62	997,20	437,67	398,16
nXP (g)	2846,97	3586,30	2858,20	1604,57	1664,11
NEL (MJ)	123,94	154,65	122,11	72,00	75,74
Ca (g)	136,24	141,35	109,59	42,94	56,23
P (g)	84,01	97,24	81,18	40,60	44,48
Kennzahlen					
Rohprotein i. TM (%)	16,02	16,65	16,64	12,61	13,08
NEL MJ je kg TM	6,90	6,91	6,57	6,01	6,47
Rohfett i.TM. (%)	4,01	3,51	3,17	2,55	3,61
Rohfaser i.TM. (%)	17,37	17,13	19,80	24,60	20,18
RNB (g)	4,84	22,13	37,36	-15,02	-21,40
Stärke + Zucker i.TM (%)	23,63	25,65	21,16	18,40	22,80
UDP (% vom XP)	14,70	10,82	10,81	14,25	18,06
Strukturierte Rohfaser (%)	12,79	11,14	14,65	21,68	18,42
Strukt. Rohfaser (g/100 kg LM)	369,35	395,55	418,77	393,53	316,93
Milchproduktionswerte (berechnet auf Basis der NEL, XP, nXP Aufnahme mit der Ration)					
Milch-NEL (kg)	28,30	37,40	24,70	10,70	11,60
Milch-XP(kg)	29,54	38,97	29,11	11,83	11,95
Milch-nXP (kg)	29,57	37,60	26,81	13,49	14,09

Legende zu Tabelle 2 Tagesrationen in den verschiedenen Produktionsgruppen

LM	Lebendmasse in kg
GPS	Gerstenpflanzensilage
MPPAAKT	Maissilage Pressschnitzelsilage Anwelksilage (2. Schnitt) Anwelksilage Gerste (1. Schnitt) Kartoffeln (roh)
LKS	Lieschkolbensilage
SWMT	Sojaextraktionsschrot Müsli Mais Triticale
AGF 02/06	Ausgleichsfutter
Elitemehl	Mineralstoffmischung für Vorbereiter-Kühe

Tabelle 3 Analysenergebnisse der TMR-Proben (n=2) aus der Vorbereiter-2-Gruppe, (Analytiklabor für Landwirtschaft und Umwelt, Blgg Deutschland GmbH)

Untersuchungsparameter		Pr. 1	Pr. 2	Mittel	Methode
Rohasche	[g/kg TS]	79	61	70,00	VDLUFA III 8.1
Rohprotein	[g/kg TS]	133	122	127,50	VDLUFA III 4.1.1
Rohfaser	[g/kg TS]	184	184	184,00	VDLUFA III 6.1.4
Rohfett	[g/kg TS]	28	27	27,50	VDLUFA III 5.1.1
Zucker	[g/kg TS]	46,1	32,3	39,20	Neocuproine
Stärke	[g/kg TS]	207,5	249,1	228,30	VDLUFA III 7.2.1
ADF	[g/kg TS]	222	232	227,00	VDLUFA III 6.5.2
NDF	[g/kg TS]	376	420	398,00	VDLUFA III 6.5.1
Ca	[g/kg TS]	10,21	5,38	7,80	VDLUFA VII 2.2.2.6
P	[g/kg TS]	3,53	3,33	3,43	VDLUFA VII 2.2.2.6
Mg	[g/kg TS]	2,59	2,2	2,40	VDLUFA VII 2.2.2.6
K	[g/kg TS]	15,26	13,48	14,37	VDLUFA VII 2.2.2.6
Na	[g/kg TS]	3,18	2,61	2,90	VDLUFA VII 2.2.2.6
Cl	[g/kg TS]	10,04	7,52	8,78	DIN 38405 D 1
S	[g/kg TS]	0,86	0,8	0,83	VDLUFA VII 2.2.2.6
DCAB	[meq/kg TS]	+192	+196	+194,00	VDLUFA III 4.8.1
ME	[MJ/kg TS]	10,7	10,5	10,60	
NEL	[MJ/kg TS]	6,9	7,1	7,00	

Tabelle 4 Analysenergebnisse der TMR-Proben (n=2) aus der Startergruppe
(Analytiklabor für Landwirtschaft und Umwelt, Bgg Deutschland GmbH)

Untersuchungsparameter		Pr. 1	Pr. 2	Mittel	Methode
Rohasche	[g/kg TS]	75	75	75,00	VDLUFA III 8.1
Rohprotein	[g/kg TS]	141	148	144,50	VDLUFA III 4.1.1
Rohfaser	[g/kg TS]	189	203	196,00	VDLUFA III 6.1.4
Rohfett	[g/kg TS]	29	31	30,00	VDLUFA III 5.1.1
Zucker	[g/kg TS]	43,7	46,3	45,00	Neocuproine
Stärke	[g/kg TS]	185,3	162,1	173,70	VDLUFA III 7.2.1
ADF	[g/kg TS]	233	246	239,50	VDLUFA III 6.5.2
NDF	[g/kg TS]	405	403	404,00	VDLUFA III 6.5.1
Ca	[g/kg TS]	7,39	6,17	6,78	VDLUFA VII 2.2.2.6
P	[g/kg TS]	3,99	3,89	3,94	VDLUFA VII 2.2.2.6
Mg	[g/kg TS]	3,57	2,73	3,15	VDLUFA VII 2.2.2.6
K	[g/kg TS]	15,56	18,11	16,84	VDLUFA VII 2.2.2.6
Na	[g/kg TS]	3,49	3,72	3,61	VDLUFA VII 2.2.2.6
Cl	[g/kg TS]	7,07	9,94	8,51	DIN 38405 D 1
S	[g/kg TS]	1,17	0,99	1,08	VDLUFA VII 2.2.2.6
DCAB	[meq/kg TS]	+278	+283	+280,50	VDLUFA III 4.8.1
ME	[MJ/kg TS]	10,7	10,7	10,70	
NEL	[MJ/kg TS]	6,9	6,7	6,80	

In der Regel erhielten die Jungkühe und Kühe der Versuchs- und der Kontrollgruppe in den ersten 60 Tagen der Laktation eine so genannte „Starter-Ration“ (s. **Tab. 4**). Danach erfolgte eine Umstallung der Tiere in die jeweilige Hochleistungsgruppe, wo eine entsprechende Ration (s. **Tab. 5**) bis zum Ende der Versuchsperiode (150 Tage p.p.) verfüttert wurde.

Tabelle 5 Analyseergebnisse der TMR-Proben (n=7) aus der Hochleistungsgruppe,
(Analytiklabor für Landwirtschaft und Umwelt, Blgg Deutschland GmbH)

Untersuchungsparameter		Min	Max	Mittel	Methode
Rohasche	[g/kg TS]	57	80	68,57	VDLUFA III 8.1
Rohprotein	[g/kg TS]	121	152	140,00	VDLUFA III 4.1.1
Rohfaser	[g/kg TS]	173	215	188,14	VDLUFA III 6.1.4
Rohfett	[g/kg TS]	30	41	33,93	VDLUFA III 5.1.1
Zucker	[g/kg TS]	25,7	71,3	45,73	Neocuproine
Stärke	[g/kg TS]	174,4	260,8	211,24	VDLUFA III 7.2.1
ADF	[g/kg TS]	218	244	230,00	VDLUFA III 6.5.2
NDF	[g/kg TS]	367	418	386,71	VDLUFA III 6.5.1
Ca	[g/kg TS]	4,69	8,12	6,52	VDLUFA VII 2.2.2.6
P	[g/kg TS]	3,19	4,34	3,84	VDLUFA VII 2.2.2.6
Mg	[g/kg TS]	2,06	3,25	2,70	VDLUFA VII 2.2.2.6
K	[g/kg TS]	11,59	19,29	14,67	VDLUFA VII 2.2.2.6
Na	[g/kg TS]	1,56	4,2	3,26	VDLUFA VII 2.2.2.6
Cl	[g/kg TS]	4,26	9,63	7,49	DIN 38405 D 1
S	[g/kg TS]	0,75	1,16	0,98	VDLUFA VII 2.2.2.6
DCAB	[meq/kg TS]	+187	+318	+244,57	VDLUFA III 4.8.1
ME	[MJ/kg TS]	10,5	11,2	10,99	
NEL	[MJ/kg TS]	6,7	7,1	6,94	

3.2 Verwendete Enzyme, Dosierung und Applikation

3.2.1 Beschreibung der Enzyme

Bei den Enzymzusätzen handelt es sich um eine:

- **Cellulase** (EC 3.2.1.4.; 1,4-(1,3; 1,4)- β -D-glucan-4-glucanohydrolase) mit einer Aktivität von 700 EGU/g des Produkts bzw. 2520 EGU/kg TM des Futters, (Produktionsorganismus: *Trichoderma reesei*)

sowie um eine

- **Amylase** (EC 3.2.1.1.; 1,4- α -D-glucan-glucanohydrolase) mit einer Aktivität von 240 KNUs/g des Produktes bzw. 960 KNUs/kg TM des Futters (Produktionsorganismus: *Bacillus licheniformis*)

Ein KNU ist definiert als die Enzymmenge, die 5,26 g Stärke unter definierten Bedingungen innerhalb einer Stunde abbaut.

Das pH- Optimum der Amylase liegt zwischen pH 5 und 6, wobei zwischen den pH-Werten 4,5 bis 8 noch etwa 50 % der optimalen Amylase-Aktivität zur Verfügung stehen. Eine Angabe des pH-Optimums der Cellulase ist nicht möglich, da es sich um ein Gemisch aus mehreren unterschiedlichen Enzymaktivitäten handelt.

Die Amylase verfügte bei (bisher unveröffentlichten) *in vitro* Versuchen über eine ausreichende Stabilität im Pansenmilieu, wo auch nach 24 Stunden noch deutliche Enzymaktivitäten nachgewiesen werden konnten. Vergleichbare Untersuchungen zur Cellulase liegen nicht vor.

Über die Stabilität der beiden eingesetzten Enzyme im *postruminalen* Verdauungstrakt (insbesondere Labmagen/Duodenum) liegen keine Informationen vor.

Beide Enzyme sind Carbohydrasen, deren Einsatz bei monogastrischen landwirtschaftlichen Nutztieren (Broiler, Legehennen und Ferkel) seit vielen Jahren üblich ist.

3.2.2 Lagerung, Aufbereitung und Dosierung der Enzyme

Für die durchgeführte Studie standen pro Enzym vier Container mit je einem Volumen von 1200 l zur Verfügung. Sie wurden in einer verschließbaren Garage gelagert, die während der Wintermonate beheizt wurde, um sie vor Frost zu schützen. Täglich fand eine Kontrolle und Registrierung der Raumtemperatur statt.

Für die Verwendung als Futterzusatzstoff erfolgte eine Verdünnung der beiden Enzyme mit Wasser. Als Misch- und Vorratsbehälter dienten zwei abdeckbare Kunststoffbehälter (Volumen 220l). Beide verdünnten Enzymlösungen wurden in einer Menge von jeweils 5 ml/kg TMR auf das Futter aufgebracht. Die Dichte der beiden Stammlösungen war unterschiedlich (Amylase 1.26, Cellulase 1.18). Die Verdünnung wurde dem entsprechend vorgenommen. Die benötigte Menge der Stammlösungen wurde mit Hilfe eines Messbechers mit Skalierung entnommen, und das Volumen des zugesetzten Wassers wurde mit einer Wasseruhr bestimmt.

Aufgrund der nur geringen zugesetzten Flüssigkeitsmenge (die Zunahme des Feuchtegehalts der Versuchsgruppen-Ration lag in der Größenordnung von etwa 1 %) wurde auf eine entsprechende Wasserzugabe zur TMR der Kontrollgruppe verzichtet.

Die Amylase- und Cellulase-Lösungen wurden jeweils für drei Tage frisch hergestellt. Vor der erneuten Befüllung der Mischbehälter erfolgte deren Reinigung mit einem Reinigungsmittel (Wofasept[®], Fa. Kesla Pharma Wolfen GmbH) und einem Hochdruckreiniger. Die Schlauchzuleitungen zu den elektrischen Pumpen wurden mit Wasser gespült.

3.2.3 Applikation der Enzymlösungen

Zur Applikation der Amylase- und Cellulase-Lösungen wurden zwei elektrische Flüssigkeitspumpen benutzt (Fa. Seva, Alhorn; Modell SEV-M80). Diese Pumpen waren an den Computer der Fütterungslogistik angeschlossen. Vor dem Versuchsbeginn wurde eine Kalibrierung vorgenommen, um die gewünschte Fördermenge sicher zu stellen. Während des Versuchszeitraumes erfolgte eine tägliche Kontrolle des Verbrauchs über die einsehbaren Daten des Fütterungscomputers sowie über die Messuhren an den Pumpen selbst. Der Computer steuerte beim Fütterungsvorgang die Pumpen (über einen Frequenzumformer) automatisch an und passte so das geförderte Flüssigkeitsvolumen der transportierten Futtermenge auf dem Hochband an. Von den zwei Pumpen ausgehend wurden Schläuche verlegt und über dem Hochband an zwei Stellen (im Abstand von ca. 5 m) befestigt. Die Enzyme wurden mit Hilfe von Flachstrahldüsen (Fa. Diva Sprühtechnik GmbH, Hamburg) auf die TMR während des Transportes vom stationären Futtermischwagen in den Stall unmittelbar vor der Fütterung aufgesprüht.

Einmal in der Woche wurden die Schläuche mit Wasser gespült, die Düsen gereinigt und auf Durchgängigkeit geprüft, um ein fächerförmiges Aufsprühen der Enzymlösungen auf die TMR sicher zu stellen.

3.2.4 Beginn und Dauer der Enzymsupplementierung

Die Supplementierung *aller* Versuchstiere begann drei Wochen a.p. (Trockensteher 2-Gruppe). Da eine Zuteilung der Tiere in Versuchs- bzw. Kontrollgruppe mit dem Partus erfolgte, erhielten somit auch die späteren Kontrolltiere die Enzymlösungen vor der Abkalbung.

In den ersten drei Tagen p.p. waren die Kühe im Reproduktionsabteil der Milchviehanlage untergebracht; hier erfolgte ebenfalls eine Verabreichung der Futterenzyme für beide Gruppen, da dies aus betrieblichen Gründen nicht anders möglich war.

Mit der Entlassung der Tiere in die Produktionsgruppen (Starter) erfolgte eine strikte räumliche Trennung von Versuchs- und Kontrolltieren, die in zwei unterschiedlichen Stallabteilungen aufgestellt wurden. Von hier an erhielten nur die Versuchskühe eine Enzymsupplementierung bis zum Versuchsende 150 Tage post partum.

3.3 Messung der täglichen Milchmenge und Milchinhaltsstoffe

Die Kühe der MVA wurden dreimal pro Tag in einem rotierenden Fischgrätenmelkstand (Melkarussel MK 40; Fa. Impulsa AG) mit 40 Plätzen und einer Zwischenmelkzeit von acht Stunden gemolken.

Die täglichen Milchmengen der Versuchstiere wurden dabei über die vorhandene Melktechnik über 150 Tage in der Laktation erfasst. Es erfolgte eine automatische Tiererkennung über einen Transponder beim Eintritt in den Melkstand. Die Daten über die

Milchmengen der Versuchs- und Kontrolltiere wurden mit Hilfe eines erstellten Computerprogramms (Software Projektierungs- und Handels-GmbH, Bad Langensalza) automatisch an den Betriebscomputer übertragen und in das Betriebs-Management-Programm „Herde-ZMS“ (Fa. Dsp-Agrosoft GmbH, Ketzin) integriert. So konnte eine einwandfreie Zuordnung der Gemelke zu den jeweiligen Versuchstieren über den gesamten Studienzeitraum gewährleistet werden.

Die Milchhaltsstoffe wurden im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung (MLP) durch den Thüringer Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V. (TVL) untersucht.

3.4 Messung der Rückenfettdicke (RFD)

Bei allen Kühen wurde zu sechs verschiedenen Zeitpunkten (56, 28 Tage a.p. und 3, 28, 56, 98, 140 Tage p.p.) die Rückenfettdicke nach Staufenberg und Schröder (2004) mit Hilfe eines Ultraschallgerätes (PU-400, Fa. Proxima[®], Weil am Rhein) mit einem Linearscannerschallkopf 5 MHz gemessen. Bei den Jungkühen begann die Messung der RFD 28 Tage vor der Abkalbung. Der Messpunkt lag im caudalen Drittel einer gedachten Linie zwischen dem Hüftbeinhöcker und dem Sitzbeinhöcker. Als Kopplungsmittel wurde eine 70 %ige Alkohollösung verwendet.

Aufgrund der großen Tierzahl wurden die zu untersuchenden Jungkühe und Kühe einmal in der Woche zu einem Block nach dem (antepartal errechnetem) Abkalbdatum zusammengefasst, so dass der tatsächliche Tag der Messung um maximal ± 4 Tage vom vorgesehenen Termin differieren kann. Ausgenommen davon ist der Tag 3 nach der Abkalbung, an dem stets exakt gemessen wurde. Der Tag der RFD Messung stimmt mit dem entsprechenden Tag der Blutprobenentnahme überein.

3.5 Probenentnahme, -aufbereitung und -verwahrung

Die Blutproben wurden mit Einmalkanülen mit Hilfe von Serumröhrchen (Kabevette-N[®], Fa. Kabe Labortechnik, Nürnberg-Elsenroth) aus der Vena coccygea am Tag 8 a. p. (errechneter Geburtstermin) sowie an den Tagen 3, 28, 56, 98, 140 p.p. entnommen. Ab dem Tag 28 p.p. bis zum Versuchsende wurden die Tiere analog der Messung der RFD nach ihrem Abkalbetermin einmal in der Woche beprobt, d.h., die Entnahme der Blutprobe und die Messung der Rückenfettdicke erfolgten am selben Tag.

Die entnommenen Blutproben blieben eine Stunde bei Raumtemperatur bis zur vollständigen Blutgerinnung stehen. Dann folgte die Zentrifugation der Proben (Zentrifuge Roto Silenta/K, Fa. Hettich[®], Tuttlingen) für 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen/Minute. Das gewonnene Serum wurde abpipettiert und in Probenröhrchen (Mikrozentrifugengefäße, 2 ml, Fa. Kisker Steinfurt) bei -18°C bis zur Analyse eingefroren.

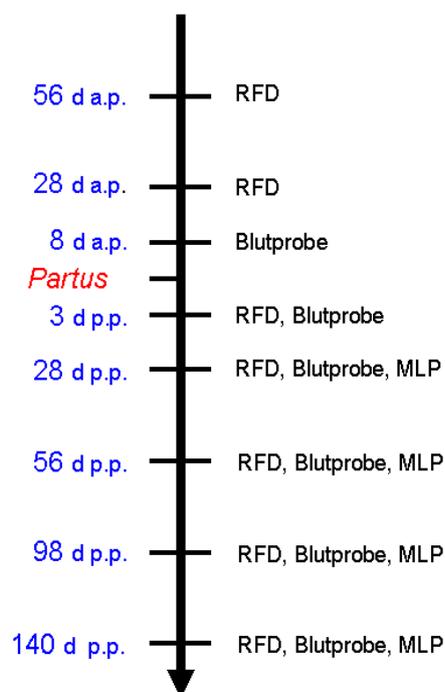


Abbildung 3 Schema über die Beprobung der Kühe im Versuchszeitraum

3.6 Bestimmungsmethoden der klinisch-chemischen Parameter

Die Serumanalysen für die Parameter Bilirubin, Cholesterol, Harnstoff, AST, β -OH-Butyrat und NEFA erfolgten in der Medizinischen Tierklinik der Universität Leipzig.

Alle Messungen erfolgten mit dem Laborautomaten Hitachi 912 bei 37 °C. Hierbei handelte es sich um standardisierte und etablierte Methoden. Die täglichen Präzisionskontrollen erfolgten laborintern mittels Precinorm[®] und Precipath[®] (Fa. Roche Diagnostics GmbH Mannheim) sowie Kontrollseren der Fa. Randox Laboratories, Krefeld.

Tabelle 6 Methoden und Variationskoeffizienten der klinisch-chemischen Untersuchungen

Material	Parameter	Bestimmungsmethoden	Einheit	VK S (%)	VK T (%)
Serum	Bilirubin	Hitachi 912 nach Jendrassik und Groff (1938) A [®]	$\mu\text{mol/l}$	0,50	2,14
Serum	Cholesterol	Hitachi 912 CHOD-PAP-Methode B [®]	mmol/l	0,76	1,28
Serum	Harnstoff	Hitachi 912 kinetischer UV-Test B [®]	mmol/l	2,63	3,63
Serum	AST	Hitachi 912 optimierte Standardmethode der IFCC B [®]	U/l	0,43	2,31
Serum	BHB	Bergmeyer/Bernt (1965) A [®]	mmol/l	4,31	1,57
Serum	NEFA	Hitachi 912 Enzymatischer Farbttest A [®]	$\mu\text{mol/l}$	0,38	2,57

A[®] =Firma Randox Laboratories Krefeld

B[®] =Firma Roche Diagnostics GmbH Mannheim

IFCC =International Federation of Clinical Chemistry

VK S (n=10)

VK T (n>30)

3.7 Fruchtbarkeitskennzahlen

Die Daten über die Fruchtbarkeitskennzahlen (Nachgeburtungsverhaltung, Besamungsindex, Trächtig- und Nicht-Trächtigkeitsindex, Gesamtträchtigkeitsrate, Erstbesamungserfolg, Zwischentragezeit und % Tiere mit einer ZTZ < 115 Tage) wurden über das Betriebs-Management-Programm „Herde-ZMS“ (Fa. Dsp-Agrosoft GmbH, Ketzin) erhoben.

3.8 Inzidenz ausgewählter Krankheiten

Während des Versuchszeitraumes Januar bis Dezember 2006 wurde die Inzidenz der Krankheitskomplexe Gebärpause, Mastitis und Labmagenverlagerung in den Versuchsgruppen festgehalten. Grundlage war auch hier das PC-Programm „Herde-ZMS“. (Fa. Dsp-Agrosoft GmbH, Ketzin) .

3.9 Bestimmung der Futteraufnahme

Da die Studie in den normalen Betriebsablauf integriert wurde, war eine exakte Aussage über die von den Versuchstieren aufgenommene Futtermenge nicht möglich.

Die vorhandene Wiege- und Fütterungstechnik erlaubte eine recht genaue Aussage über die Menge des vorgelegten Futters. Einmal pro Tag (vor der ersten Fütterung) wurden die Futtertröge gereinigt und die Reste der TMR verworfen. Diese Reste hatten eine Größenordnung von < 1 % der täglich vorgelegten Futtermenge (gewogene Stichproben). Es bleibt jedoch zu erwähnen, dass in den jeweiligen Tiergruppen über den gesamten Versuchszeitraum auch Kühe untergebracht waren, die nicht am Versuch teilnahmen.

3.10 Biostatistische Auswertung

Die statischen Auswertungen wurden mit Hilfe von SPSS für Windows, Version 14.0 (SPSS Inc., U.S.A.) durchgeführt. Die Darstellung der kontinuierlichen Variablen erfolgte als Mittelwerte, während als Streumaße die Standardfehler gewählt wurden. Die kontinuierlichen Variablen wurden mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests hinsichtlich ihrer Normalverteilung überprüft. Während einige der getesteten Variablen keine Normalverteilung aufwiesen (Kolmogorov-Smirnov-Test: $p < 0,05$), konnte für andere Variablen eine Normalverteilung berechnet werden (Kolmogorov-Smirnov-Test: $p \geq 0,05$). Bei den Mittelwertvergleichen wurden daher Tests für normalverteilte Stichproben und nichtparametrische Tests für nicht normalverteilte Stichproben herangezogen.

Beim Vergleich von zwei unabhängigen, normalverteilten Stichproben wurde der t-Test verwendet, während bei nicht normalverteilten Stichproben der Mann-Whitney-U-Test als nichtparametrisches Verfahren durchgeführt wurde.

Die kategorisierten Daten hingegen wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests, bzw. des exakten Tests nach Fisher ausgewertet. Bei Verwendung des Chi-Quadrat- Tests wurden die

erforderlichen Testvoraussetzungen erfüllt, so dass bei allen Tests weniger als 20% der erwarteten Häufigkeit kleiner als 5 war. Bei allen durchgeführten Tests erfolgte eine zweiseitige Signifikanzüberprüfung, wobei für alle statistischen Tests ein p-Wert $< 0,05$ als statistisch signifikant angenommen wurde. In den graphischen Darstellungen, die ebenfalls mit SPSS erstellt wurden, sind zur Veranschaulichung der Mittelwerte Fehlerbalken verwendet worden, wobei als Streumaß aufgrund der großen Streubreite die Standardfehler aufgeführt wurden. Die Vergleiche der Milchleistung über 150 Tage in der Kontroll- und Versuchsgruppe wurden in Liniendiagrammen veranschaulicht. Die kategorisierten Daten wurden graphisch mit Hilfe von einfachen und gruppierten Balkendiagrammen dargestellt. Die Balkendiagramme zur Darstellung der Entwicklung des Körperkonditionsverlaufes (RFD), zur Menge des vorgelegten Futters sowie die Abbildungen zu den zusätzlich angestellten Untersuchungen (**Abschnitt 4.7**) wurden mit dem Programm SigmaPlot, Version 8.0 (SPSS Inc., USA), erstellt.

4 Ergebnisse

4.1 Milchleistung der Tiere im Versuchszeitraum

Die täglichen Milchmengen der Tiere sind über den Zeitraum der ersten 150 Tage der Laktation erfasst worden.

Die Jungkühe (1. Laktationsperiode) der Kontroll- und Versuchsgruppe zeigten hierbei keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der kumulierten Milchleistung (t-Test; $p=0,92$).

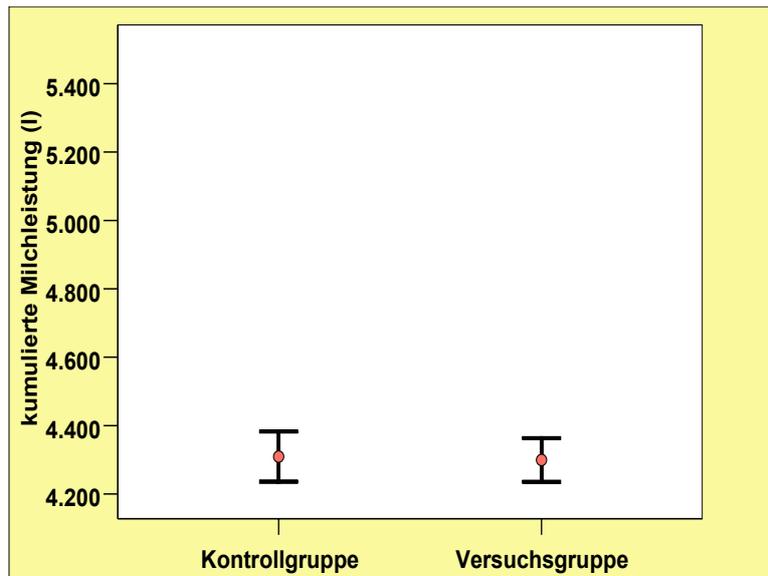


Abbildung 4 Kumulierte Milchleistung (kg) der Jungkühe über 150 Tage

Tabelle 7 Kumulierte Milchleistung der Jungkühe

	Gruppe	N	Mittelwert	SD	S.E.M.
Kumulierte Milchleistung (150 Tage)	Versuchsgruppe	68	4299,58	526,88	63,89
	Kontrollgruppe	70	4309,31	612,53	73,21

Die 1.-laktierenden Tiere der Versuchsgruppe hatten eine durchschnittliche tägliche Milchleistung von 28,66 kg und die Kontrollgruppe von 28,73 kg.

Zur genaueren Betrachtung wurde der Versuchszeitraum der ersten 150 Laktationstage in 10-Tages-Intervalle unterteilt, um einen Gruppenvergleich bezüglich der Milchleistung in diesen Zeitabschnitten durchzuführen.

Tabelle 8 Milchmengen der Jungkühe in 10-Tages-Intervallen

	Gruppe	N	Mittelwert	SD	S.E.M
TPP 1 - 10	Versuchsgruppe	68	20,50	4,16	0,50
	Kontrollgruppe	70	20,02	4,15	0,50
TPP 11 - 20	Versuchsgruppe	68	26,11	5,00	0,61
	Kontrollgruppe	70	26,22	5,03	0,60
TPP 21 - 30	Versuchsgruppe	68	28,78	4,87	0,59
	Kontrollgruppe	70	28,41	5,68	0,68
TPP 31 - 40	Versuchsgruppe	68	30,42	4,56	0,55
	Kontrollgruppe	70	30,09	5,44	0,65
TPP 41 - 50	Versuchsgruppe	68	30,78	4,77	0,58
	Kontrollgruppe	70	30,81	5,39	0,64
TPP 51 - 60	Versuchsgruppe	68	30,57	4,88	0,59
	Kontrollgruppe	70	31,08	4,96	0,59
TPP 61 - 70	Versuchsgruppe	68	30,42	4,43	0,54
	Kontrollgruppe	70	31,18	4,98	0,59
TPP 71 - 80	Versuchsgruppe	68	30,18	3,93	0,48
	Kontrollgruppe	70	30,54	4,60	0,55
TPP 81 - 90	Versuchsgruppe	68	29,84	4,21	0,51
	Kontrollgruppe	70	29,98	4,64	0,55
TPP 91 - 100	Versuchsgruppe	68	29,63	3,58	0,43
	Kontrollgruppe	70	29,71	4,09	0,49
TPP 101 - 110	Versuchsgruppe	68	29,44	3,89	0,47
	Kontrollgruppe	70	29,52	4,30	0,51
TPP 111 - 120	Versuchsgruppe	68	29,04	3,62	0,44
	Kontrollgruppe	70	29,18	4,05	0,48
TPP 121 - 130	Versuchsgruppe	68	28,68	3,40	0,41
	Kontrollgruppe	70	28,66	4,09	0,49
TPP 131 - 140	Versuchsgruppe	68	28,03	3,49	0,42
	Kontrollgruppe	70	28,11	3,80	0,45
TPP 141 - 150	Versuchsgruppe	68	27,54	3,39	0,41
	Kontrollgruppe	70	27,44	4,09	0,49

Beim Vergleich zwischen der Kontroll- und Versuchsgruppe lässt sich bei Tieren in der ersten Laktation zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Milchmenge nachweisen (t-test; Tabelle 8).

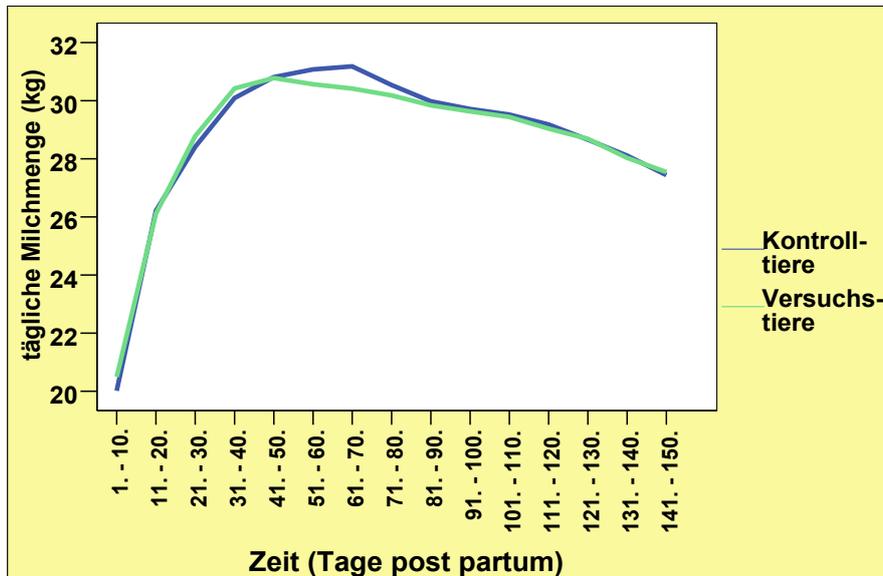


Abbildung 5 Laktationskurven der Jungkühe

Bei den Tieren ab der 2. Laktation zeigte sich allenfalls ein leichter Trend zu einer höheren kumulierten Milchleistung in der Versuchsgruppe, wobei sich keine statistische Signifikanz nachweisen ließ (t-Test; $p=0,425$).

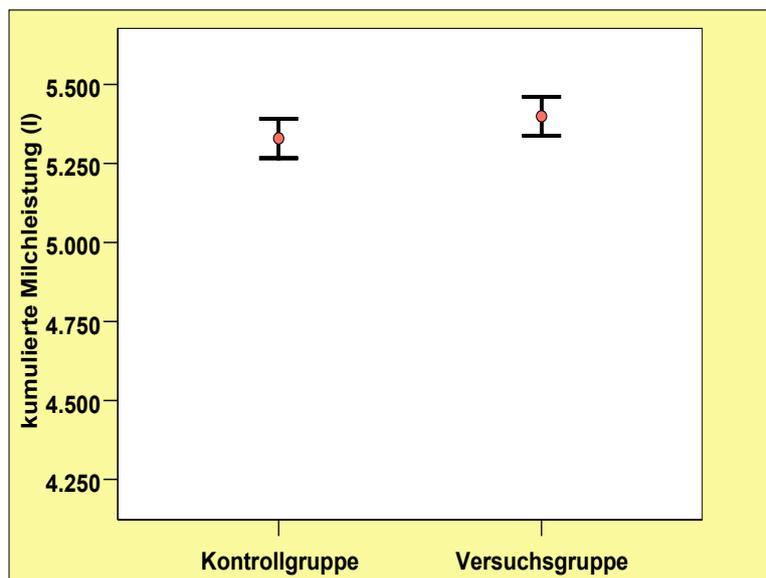


Abbildung 6 Kumulierte Milchleistung der Kühe über 150 Tage

Tabelle 9 Kumulierte Milchleistung der Kühe (2. – 8. Laktation)

	Gruppe	N	Mittelwert	SD	S.E.M.
Kumulierte Milchleistung (150 Tage)	Versuchsgruppe	141	5399,29	731,24	61,58
	Kontrollgruppe	137	5329,16	731,95	62,54

Bei den Kühen der Versuchsgruppe ergibt sich somit eine durchschnittliche tägliche Milchleistung von 35,99 kg. Kühe der Kontrollgruppe erbrachten eine durchschnittliche Leistung von 35,53 kg pro Tag.

Analog zur biometrischen Untersuchung bei den Jungkühen wurde der Untersuchungszeitraum (150 Tage) auch bei den Kühen (≥ 2 . Laktation) in 10-Tages-Intervalle unterteilt:

Tabelle 10 Milchmengen der Kühe in 10-Tages-Intervallen

	Gruppe	N	Mittelwert	SD	S.E.M.
TPP 1 - 10	Versuchsgruppe	141	27,07(x)	5,64	0,48
	Kontrollgruppe	137	24,51	6,43	0,55
TPP 11 - 20	Versuchsgruppe	141	34,45	6,64	0,56
	Kontrollgruppe	137	33,55	7,14	0,61
TPP 21 - 30	Versuchsgruppe	141	37,93	6,37	0,54
	Kontrollgruppe	137	36,93	7,49	0,64
TPP 31 - 40	Versuchsgruppe	141	39,89	6,48	0,55
	Kontrollgruppe	137	38,84	7,08	0,60
TPP 41 - 50	Versuchsgruppe	141	40,03	6,43	0,54
	Kontrollgruppe	137	39,40	6,52	0,56
TPP 51 - 60	Versuchsgruppe	141	39,54	6,23	0,52
	Kontrollgruppe	137	39,48	6,35	0,54
TPP 61 - 70	Versuchsgruppe	141	38,93	6,05	0,51
	Kontrollgruppe	137	39,07	6,75	0,58
TPP 71 - 80	Versuchsgruppe	141	38,04	5,78	0,49
	Kontrollgruppe	137	38,41	6,48	0,55
TPP 81 - 90	Versuchsgruppe	141	37,53	5,65	0,48
	Kontrollgruppe	137	37,38	6,02	0,51
TPP 91 - 100	Versuchsgruppe	141	36,50	5,73	0,48
	Kontrollgruppe	137	36,48	5,83	0,50
TPP 101 - 110	Versuchsgruppe	141	35,84	5,55	0,47
	Kontrollgruppe	137	35,31	5,56	0,48
TPP 111 - 120	Versuchsgruppe	141	34,81	5,30	0,45
	Kontrollgruppe	137	34,62	5,47	0,47
TPP 121 - 130	Versuchsgruppe	141	33,93	5,33	0,45
	Kontrollgruppe	137	33,70	5,61	0,48
TPP 131 - 140	Versuchsgruppe	141	33,06	5,23	0,44
	Kontrollgruppe	137	33,02	5,14	0,44
TPP 141 - 150	Versuchsgruppe	141	32,37	5,08	0,43
	Kontrollgruppe	137	32,21	5,10	0,44

(x) = $p < 0,05$

Beim Vergleich der Versuchs- mit der Kontrollgruppe bei Tieren ab der 2. Laktation lässt sich ein hochsignifikanter Unterschied vom 1. – 10. Tag p.p. nachweisen ($p < 0,001$; t-Test), während im weiteren Verlauf keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Milchmenge nachweisbar sind (s. **Tab. 10**).

Die Laktationskurven der Kühe (≥ 2 . Laktation) sind in **Abb. 7** graphisch veranschaulicht.

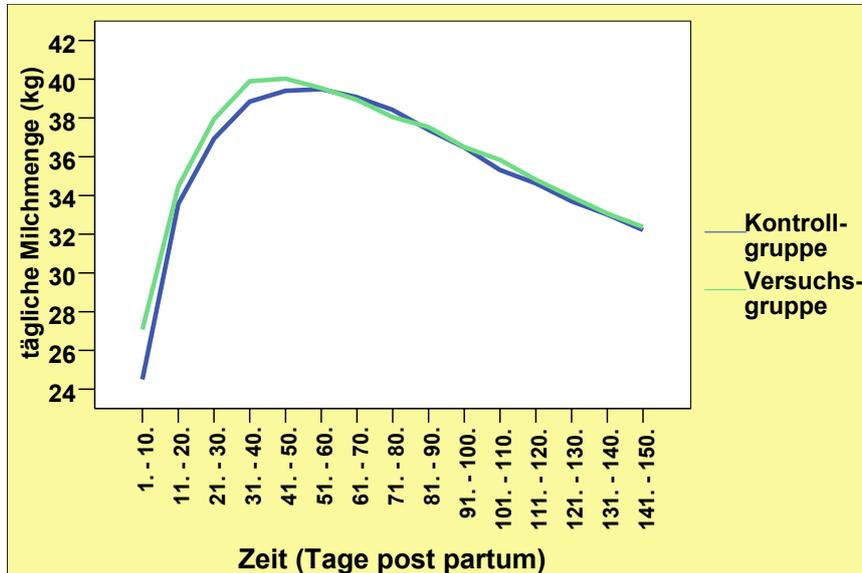


Abbildung 7 Laktationskurven der Kühe

Es ist aufgrund des Verlaufs der Laktationskurven erkennbar, dass die Versuchsgruppe während der ersten 50 Tage (siehe **Tab. 10**) immer tendenziell höhere Milchleistungen aufweist. Aus diesem Grunde wurde für die Zeiträume Tag 1-30 p.p. sowie Tag 1-50 p.p. auch die kumulierte Milchmenge ermittelt und verglichen (**Tab. 11 u. 12 / Abb. 8 und 9**). Dabei zeigt sich im ersten Zeitabschnitt (Tag 1-30 p.p.) eine signifikant höhere kumulierte Milchleistung in der Versuchsgruppe ($p < 0,05$; t-Test). Beim Vergleich der erbrachten Milchleistung nach 50 Tagen zeigt sich noch ein deutlicher Trend für eine größere Milchleistung in der Versuchsgruppe, wobei sich keine statistische Signifikanz nachweisen ließ ($p = 0,085$; t-Test).

Tabelle 11 Kumulierte Milchleistung der Kühe über 30 Tage

	Gruppe	N	Mittelwert	SD	S.E.M.
Kumulierte Milchleistung (30 Tage)	Versuchsgruppe	141	994,58 (x)	176,83	14,89
	Kontrollgruppe	137	949,89	193,75	16,56

(x) = $p < 0,05$

Tabelle 12 Kumulierte Milchleistung der Kühe über 50 Tage

	Gruppe	N	Mittelwert	SD	S.E.M.
Kumulierte Milchleistung (50 Tage)	Versuchsgruppe	141	1793,78	289,47	24,38
	Kontrollgruppe	137	1732,26	303,30	25,91

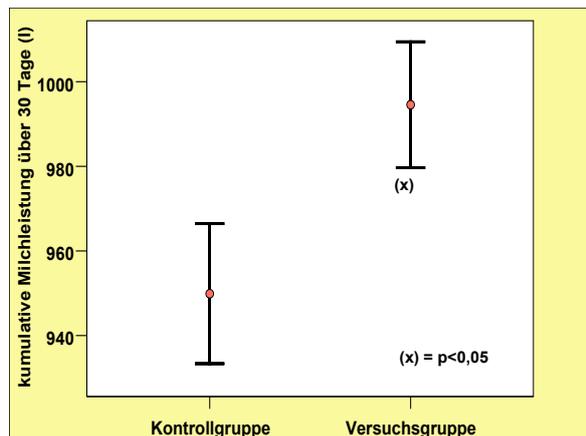


Abbildung 8 Kumulierte Milchleistung der Kühe über 30 Tage ($p < 0,05$)

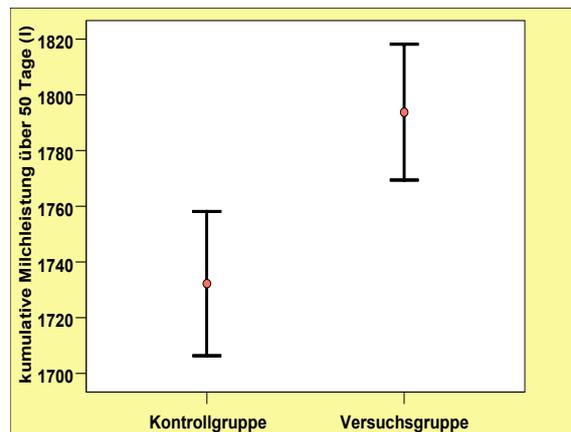


Abbildung 9 Kumulierte Milchleistung der Kühe über 50 Tage ($p = 0,085$)

4.2 Zusammensetzung der Milch Inhaltsstoffe (MLP)

Die Milch Inhaltsstoffe wurden im Rahmen der monatlichen Milchleistungsprüfung (MLP) durch den Thüringer Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V., (TVL) untersucht. Da sich die jeweiligen Zeitpunkte der Probenentnahmen bei den einzelnen Tieren entsprechend ihrem Abkalbedatum unterscheiden, wurde ein Zeitintervall von 30 Tagen gewählt, um die MLPs der Versuchs- und Kontrollgruppe miteinander vergleichen zu können. Dies bedeutet, dass für das Einzeltier bis zu 5 Milchleistungsprüfungen im Versuchszeitraum von 150 Tagen vorliegen (Im folgenden MLP 1 bis 5 genannt). Das erste Zeitintervall beginnt am Tag 1 und endet mit Tag 30 *post partum*. Die anderen vier Zeitabschnitte wurden analog gebildet. Aus den folgenden Abbildungen sind die Ergebnisse der Milchleistungsprüfungen 1 bis 5, getrennt für Jungkühe und Kühe, zu entnehmen.

4.2.1 Melktage

Nach der oben beschriebenen zeitlichen Eingruppierung wurde ein Vergleich der Gruppen bezüglich des Melktages (=Tag p.p. an dem die jeweilige MLP stattfand) vorgenommen:

Tabelle 13 Melktage (Tage p.p.) der Jungkühe zum Zeitpunkt der MLP

	Gruppe	N	Mittelwert	SD	S.E.M
MT/MLP 1	Kontrollgruppe	47	20,23	6,929	1,011
	Versuchsgruppe	45	19,38	7,017	1,046
MT/MLP 2	Kontrollgruppe	54	49,33	8,000	1,089
	Versuchsgruppe	54	48,07	8,294	1,129
MT/MLP 3	Kontrollgruppe	70	78,57	9,290	1,110
	Versuchsgruppe	67	77,88	9,404	1,149
MT/MLP 4	Kontrollgruppe	69	109,46	8,519	1,026
	Versuchsgruppe	68	108,22	8,425	1,022
MT/MLP 5	Kontrollgruppe	67	138,22	8,222	1,004
	Versuchsgruppe	67	137,69	8,223	1,005

Die Zeitpunkte der MLPs 1 bis 5 sind bei den Jungkühen nicht signifikant unterschiedlich (Mann-Whitney-U-Test).

Eine entsprechende Darstellung für die Kühe (ab der 2. Laktation) ist in **Tab.14** gegeben:

Tabelle 14 Melktage (Tage p.p.) der Kühe zum Zeitpunkt der MLP

	Gruppe	N	Mittelwert	SD	S.E.M.
MT/MLP 1	Kontrollgruppe	93	21,06	6,403	,664
	Versuchsgruppe	87	20,08	6,760	,725
MT/MLP 2	Kontrollgruppe	114	49,70	9,169	,859
	Versuchsgruppe	120	46,35	9,137	,834
MT/MLP 3	Kontrollgruppe	135	79,87	8,547	,736
	Versuchsgruppe	141	77,58 (x)	8,932	,752
MT/MLP 4	Kontrollgruppe	134	109,91	8,333	,720
	Versuchsgruppe	139	107,65 (x)	8,977	,761
MT/MLP 5	Kontrollgruppe	129	138,58	8,110	,714
	Versuchsgruppe	133	136,39 (x)	8,500	,737

(x) = $p < 0,05$

Bei den Kühen erfolgten die Milchleistungsprüfungen **3 bis 5** der Versuchsgruppe an einem signifikant früheren Zeitpunkt ($p < 0,05$; Mann-Whitney-U-Test).

4.2.2 Milch-Menge

Im Rahmen der Milchleistungsprüfung wurde auch die Milchleistung (kg) der Tiere an dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt bestimmt.

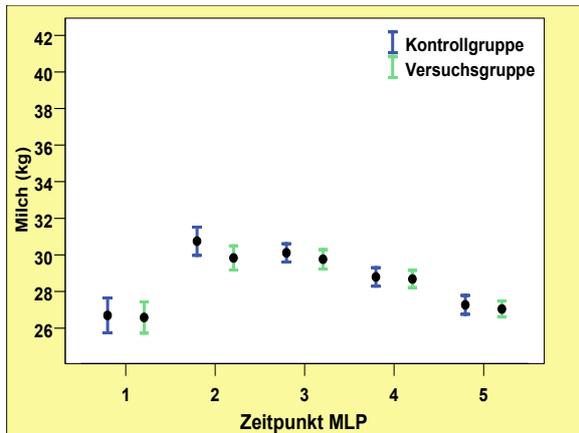


Abbildung 10 Milchmengen der Jungkühe (MLP 1-5)

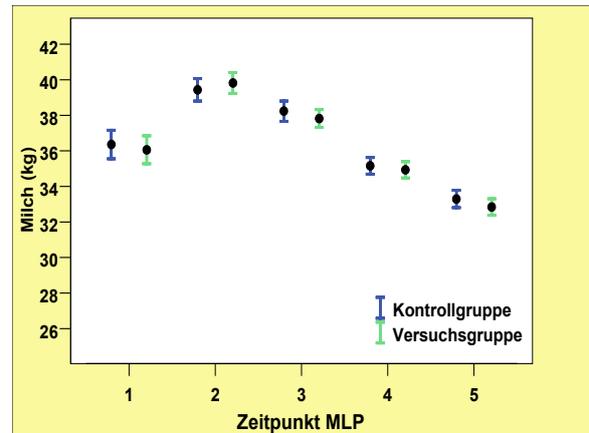


Abbildung 11 Milchmengen der Kühe (MLP 1-5)

Sowohl zwischen den Jungkühen als auch zwischen den Kühen der Versuchs- und der Kontrollgruppe war an keinem der Untersuchungszeitpunkte ein signifikanter Unterschied in der Milchleistung zu beobachten. Eine genauere Beschreibung der täglichen Milchmengen im Versuchszeitraum wird im Abschnitt 4.1 gegeben.

4.2.3 Milch-Fettgehalt

Die Ergebnisse der Messungen des Milch-Fettgehaltes sind den **Abb. 12** (Jungkühe) und **13** (Kühe) zu entnehmen.

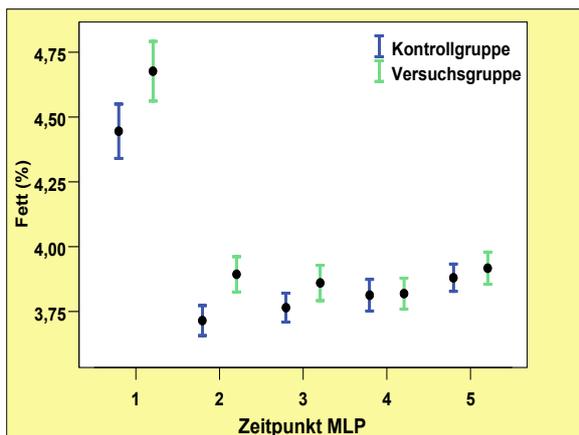


Abbildung 12 Milch-Fett-Gehalte der Jungkühe (MLP 1-5)

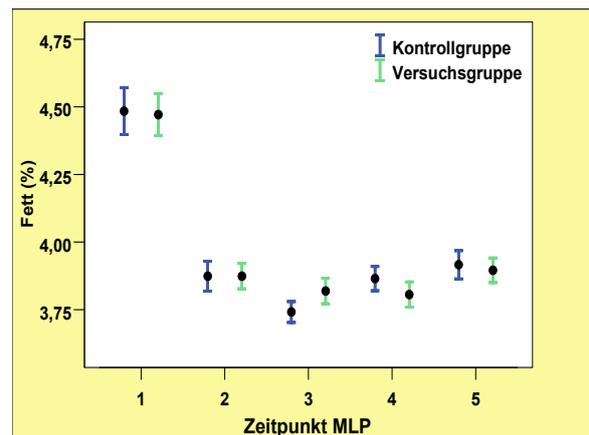


Abbildung 13 Milch-Fett-Gehalte der Kühe (MLP 1-5)

Zum Zeitpunkt der MLP 2 besteht ein deutlicher Trend zu einem höheren Fettanteil in der Versuchsgruppe, wobei sich jedoch keine statistische Signifikanz berechnen lässt ($p=0,06$; Mann-Whitney-U-Test).

Ein Vergleich der beiden Gruppen mittels Mann-Whitney-U-Test zeigt zu keinem Untersuchungszeitpunkt einen signifikanten Unterschied im Milch-Fett-Gehalt bei den Kühen.

4.2.4 Milch-Protein-Gehalt

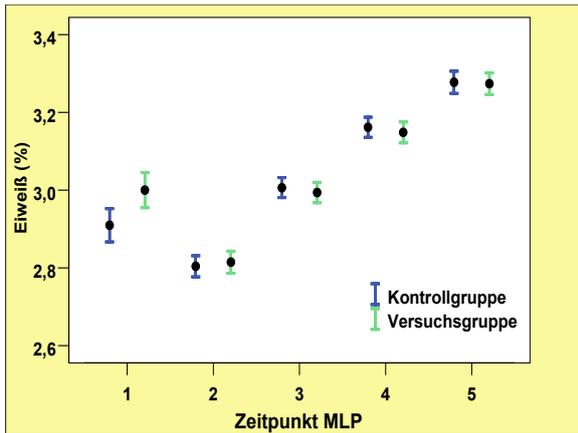


Abbildung 14 Milch-Protein-Gehalte der Jungkühe (MLP 1-5)

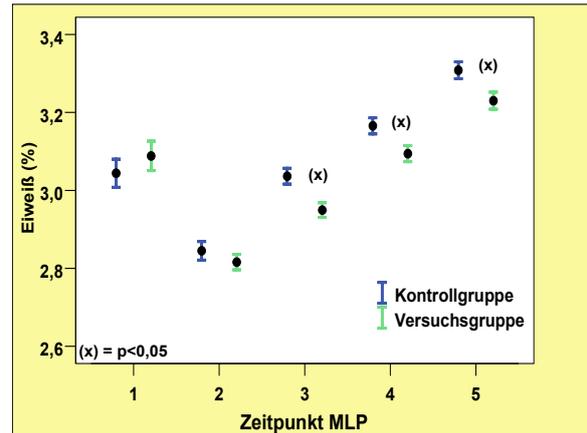


Abbildung 15 Milch-Protein-Gehalte (%) der Kühe (MLP 1-5)

Der Vergleich von Versuchs- und Kontrollgruppe bezüglich des Milch-Protein-Gehaltes mittels Mann-Whitney-U-Test ergibt bei den Jungkühen keine signifikanten Unterschiede. Bei den Kühen hingegen zeigt die Versuchsgruppe bei der MLP 3 bis 5 einen signifikant niedrigeren Milch-Protein-Gehalt.

4.2.5 Milch-Harnstoff-Gehalt

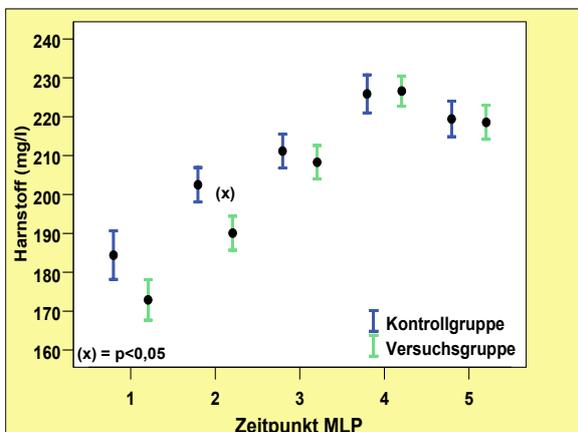


Abbildung 16 Harnstoff-Gehalt der Milch der Jungkühe (MLP 1-5)

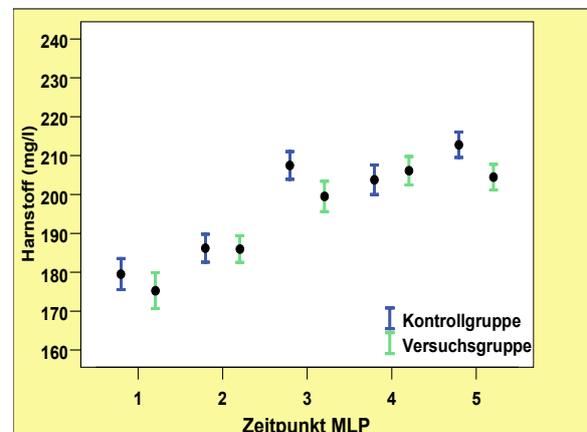


Abbildung 17 Harnstoff-Gehalt der Milch der Kühe (MLP 1-5)

Im Gruppenvergleich der Jungkühe wurde zum Zeitpunkt der MLP 2 ein signifikanter Unterschied im Harnstoff-Gehalt der Milch festgestellt ($p < 0,05$; t-test).

Bei den Kühen (**Abb.17**) ist zum Zeitpunkt der MLP 5 ein leichter Trend für einen niedrigeren Harnstoff-Gehalt in der Milch zu beobachten, wobei der Unterschied statistisch nicht signifikant war ($p = 0,074$; t-Test).

4.2.6 Zell-Zahl-Gehalt der Milch

Der Vergleich von Versuchs- und Kontrollgruppe bezüglich der Zellzahlen in den untersuchten Milchproben mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt sowohl bei den Jungkühen als auch bei den Kühen keine signifikanten Differenzen. Lediglich zum Zeitpunkt der MLP 4 ist ein leichter Trend für einen niedrigeren Zell-Zahl der Milch der Versuchstiere zu beobachten (Jungkühe: $p = 0,081$; Kühe: $p = 0,088$). Die **Abb. 18** und **19** veranschaulichen die Zell-Zahlen in den beiden Gruppen zu den verschiedenen Zeitpunkten:

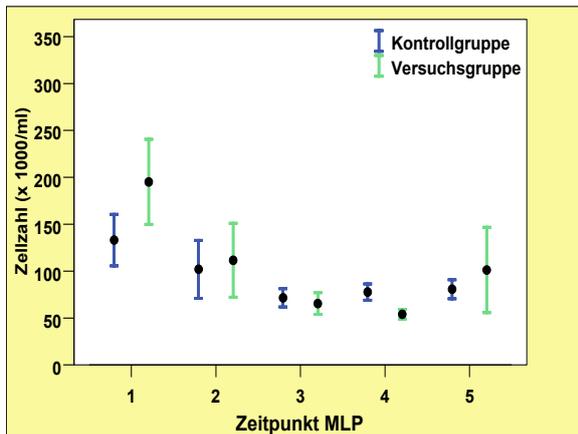


Abbildung 18 Zell-Zahlen der Milch der Jungkühe (MLP 1-5)

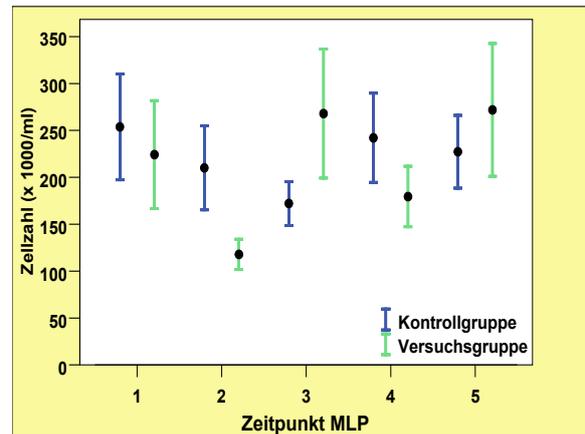


Abbildung 19 Zell-Zahlen der Milch der Kühe (MLP 1-5)

4.2.7 Laktose-Gehalt der Milch

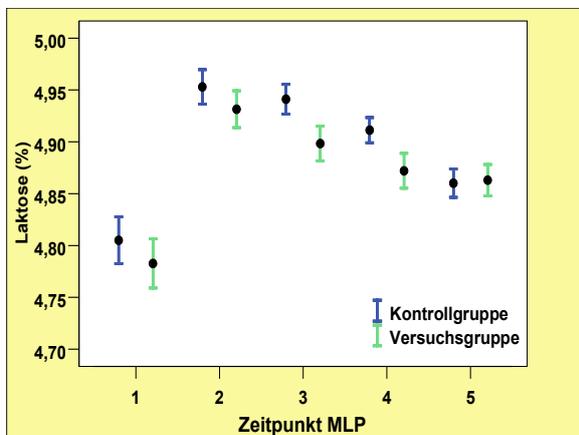


Abbildung 20 Laktose-Gehalt der Milch der Jungkühe (MLP 1-5)

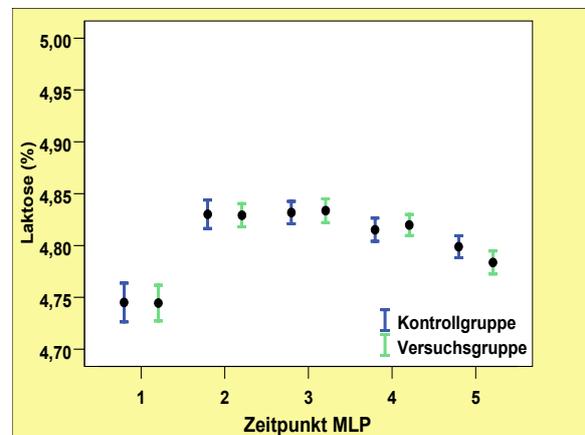


Abbildung 21 Laktose-Gehalt der Milch der Kühe (MLP 1-5)

Zum Zeitpunkt der MLP 3 und 4 ist ein deutlicher Trend für einen niedrigeren Laktose-Gehalt in der Versuchsgruppe zu erkennen, wobei keine statistische Signifikanz besteht ($p=0,054$ bzw. $0,061$; t-Test).

Ein Gruppenvergleich der Kühe bezüglich des Laktose-Gehaltes zeigt im t-Test zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede.

4.3 Rückenfettdicke (RFD)

Zur Beurteilung des Körperkonditionsverlaufes (und der Fettmobilisation) der Versuchstiere wurde die RFD in der Trockensteher-Phase (56 und 28 Tage a.p.) sowie im Verlauf der Laktation an den Tagen 3, 28, 56, 98 und 140 p.p. sonographisch gemessen. Bei den Jungkühen beginnt die Aufzeichnung der RFD-Werte mit dem Tag 28 ante partum.

Die folgenden 2 Abbildungen zeigen die Entwicklung der RFD im Versuchszeitraum bei den Jungkühen und Kühen.

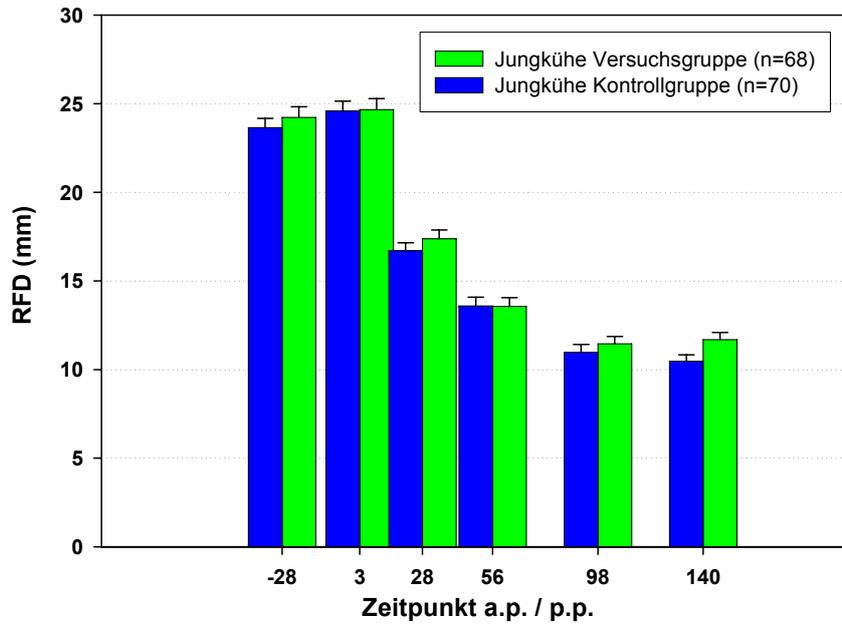


Abbildung 22 Entwicklung der Rückenfettdicke bei den Jungkühen

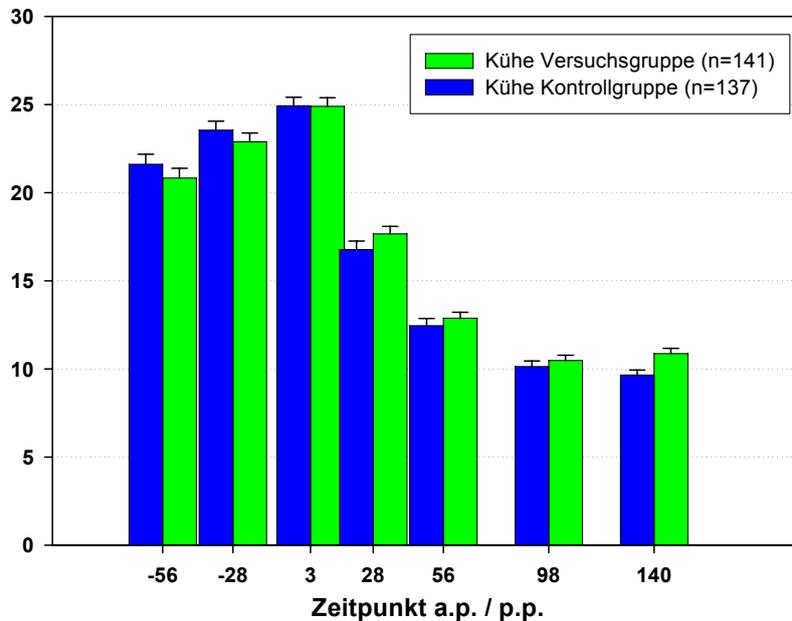


Abbildung 23 Entwicklung der Rückenfettdicke bei den Kühen

Bei der Betrachtung des Körperkonditionsverlaufes ist ein leichter Anstieg der RFD vom Messbeginn bis zum Zeitpunkt der Geburt (Tag 3 p.p.) zu verzeichnen. Mit der einsetzenden Milchproduktion zeigen beide Gruppen eine deutliche Abnahme der RFD im Laktationsverlauf. In der Kontrollgruppe hält im Mittel die Mobilisierung von Fett bis zum Versuchsende (140 Tage p.p.) an, während in der Versuchsgruppe hier ein leichter Anstieg der RFD zu beobachten ist.

Um das Ausmaß der Mobilisierung von Körperfett in den beiden Gruppen besser beschreiben und miteinander vergleichen zu können, wurde die Differenz der RFD zwischen zwei Mess-Zeitpunkten untersucht. Ausgangspunkt war der Tag 3 p.p., da hier in allen Fällen das Maximum der RFD im Laktationsverlauf erreicht wurde. Die Mobilisierungsraten folgender Zeitintervalle wurden demnach untersucht: Tag 3 – Tag 98 p.p., Tag 3 – Tag 140 p.p. sowie Tag 98 – 140 p.p..

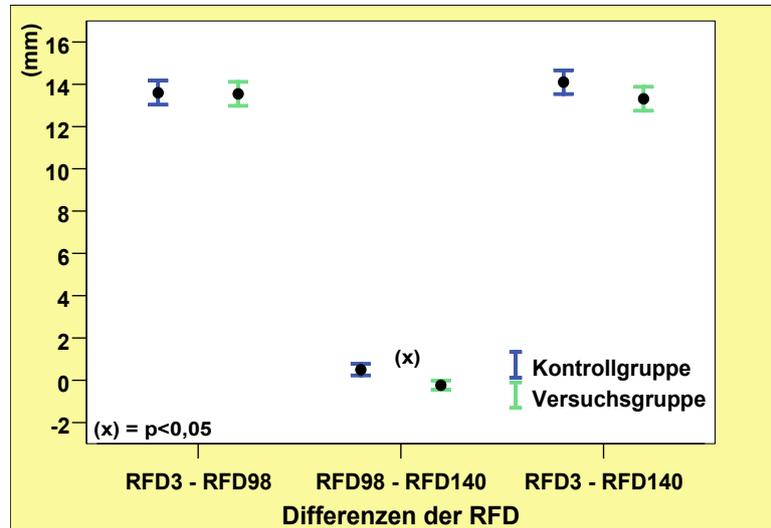


Abbildung 24 Abnahme der Rückenfettdicke verschiedener Zeitintervalle (Jungkühe)

Der Vergleich zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe bei den Jungkühen mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests zeigt einen signifikanten Unterschied in der Entwicklung der RFD vom Tag 98 – 140 p.p. ($p < 0,05$).

Bei den Kühen ist beim Gruppenvergleich im Intervall Tag 98 – Tag 140 ein hochsignifikanter Unterschied festzustellen ($p < 0,05$). Des Weiteren besteht ein signifikanter Unterschied in der Entwicklung der RFD im Zeitintervall Tag 3 – Tag 140 p.p. zu Gunsten der Versuchsgruppe ($p < 0,05$).

Die folgende **Abb. 25** veranschaulicht die Entwicklung des Körperkonditionsverlaufes bei den Kühen.

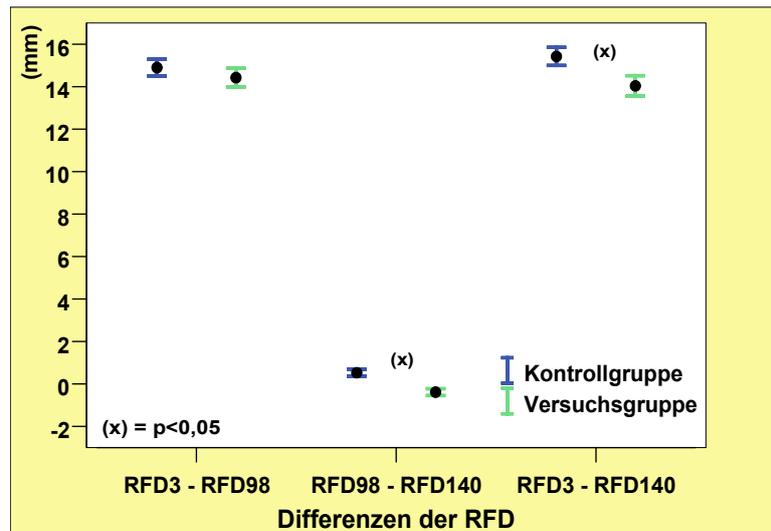


Abbildung 25 Abnahme der Rückenfettdicke verschiedener Zeitintervalle (Kühe)

4.4 Blutparameter

Zur Beurteilung des Energie- und Stoffwechselstatus wurden folgende Blutparameter untersucht:

- Bilirubin
- Cholesterol
- Harnstoff
- Aspartat-Amino-Transferase (AST)
- β -OH-Butyrat (BHB)
- Non-Esterified-Fatty-Acids (NEFA)

Die Blutentnahmen erfolgten 8 Tage a.p. (nach dem berechneten Abkalbedatum) sowie im Laktationsverlauf am jeweils gleichen Tag wie die Messung der RFD (Tage p.p. 3, 28, 56, 98, 140). Die Ergebnisse der Analysen sind den folgenden Abbildungen zu entnehmen:

4.4.1 Bilirubin

Bilirubin ist der Hauptgallenfarbstoff und entsteht zum überwiegenden Teil durch den Abbau von Hämoglobin. Bilirubin 1 wird an Albumin gebunden, zur Leber transportiert und dort glukuronidiert, wobei das wasserlösliche Bilirubin 2 entsteht (Kraft und Dürr, 2005). Bilirubinkonzentrationen von bis zu 20 $\mu\text{mol/l}$ sprechen für einen Inanitionsikterus, welcher bei zu geringer Nahrungsaufnahme durch die entstehende Konkurrenz von Metaboliten der Lipolyse mit Bilirubin um die Transportproteine erklärbar ist (Fürll und Schafer, 1992; Naylor

et al., 1980). Erst Werte, die über diese Grenze hinausgehen, sprechen für Leberbelastungen oder -schädigungen.

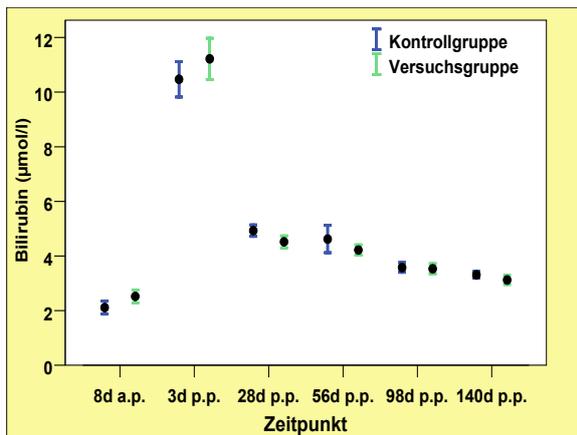


Abbildung 26 Bilirubin (µmol/l): Jungkühe

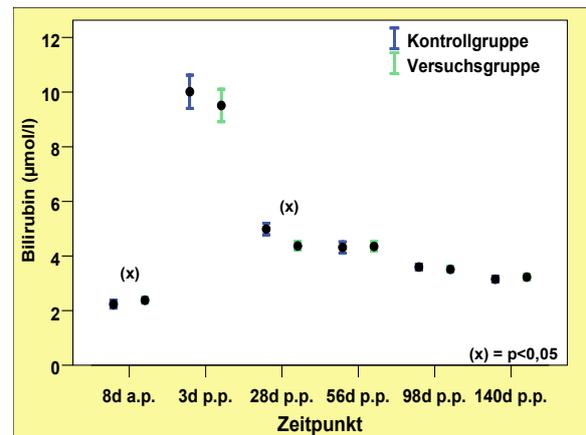


Abbildung 27 Bilirubin (µmol/l): Kühe

Die gemessenen Bilirubinkonzentrationen zu den verschiedenen Zeitpunkten befinden sich im oben angegebenen Referenzbereich.

Bei den Jungkühen wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen beobachtet. Die Kühe der Kontrollgruppe zeigen am Tag 8 a.p. einen signifikant niedrigeren Bilirubingehalt ($p=0,046$), während am Tag 28 p.p. die Tiere der Versuchsgruppe einen signifikant niedrigeren Bilirubin-Wert im Vergleich zur Kontrolle zeigten ($p=0,005$; Mann-Whitney-U-Test).

4.4.2 Cholesterol

Cholesterol wird unter anderem in der Leber synthetisiert, mit der Galle sezerniert und teilweise im Darm rückresorbiert (Fürl, 2000) und ist ein wesentlicher Bestandteil der Lipoproteine, so dass LDL- und HDL-Konzentrationsänderungen eng mit denen des Cholesterols korrelieren (Fürl et al., 1998). Es dient als wichtiger Parameter zur Erkennung von Verdauungsstörungen (Fürl, 2002) und eignet sich neben der Messung der CK-Aktivität und der Bilirubinkonzentration gut als Screening für nach der Abkalbung krankheitsgefährdete Kühe (Fürl und Kleiser, 1998). Der Referenzwert für Cholesterol beträgt > 2 mmol/l (Kraft und Dürr, 2005).

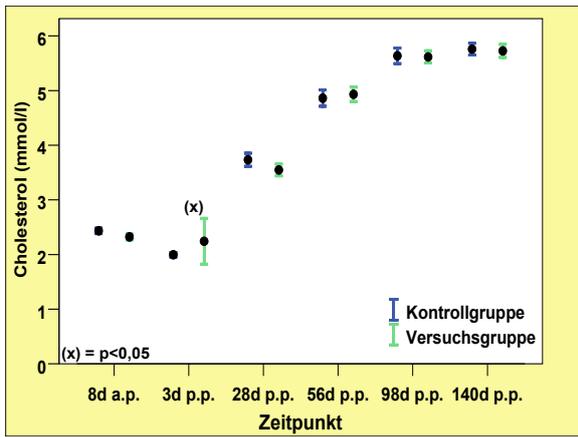


Abbildung 28 Cholesterol (mmol/l): Jungkühe

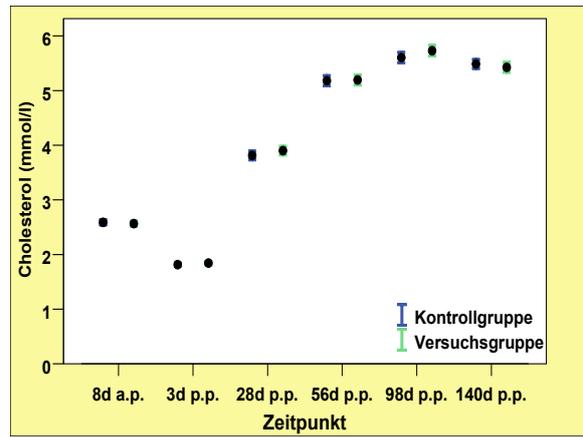


Abbildung 29 Cholesterol (mmol/l): Kühe

Nach einem anfänglichen leichten Abfall der Konzentration von Cholesterin um die Geburt (Tag 3 p.p.) kann bei Jungkühen und Kühen in beiden Gruppen ein Anstieg über den Versuchszeitraum beobachtet werden.

Die Jungkühe der Versuchsgruppe zeigen an Tag 3 p.p. einen signifikant höheren Cholesterolgehalt ($p=0,015$; Mann-Whitney-U-Test). Bei den Kühen sind zu keinem Zeitpunkt statistisch abzusichernde Differenzen zwischen den Gruppen zu ermitteln.

4.4.3 Harnstoff

Im Harnstoffzyklus wird in der Leber aus dem Eiweißabbauprodukt Ammoniak Harnstoff synthetisiert, welcher als sensibler Indikator für den Eiweißstoffwechsel gilt (Lotthammer, 1981). Zu niedrige Serumgehalte weisen demnach auf eine verminderte Futteraufnahme hin; zu hohe Werte zeigen einen absoluten oder im Verhältnis zur Energieversorgung bestehenden Eiweißüberschuss an (Lotthammer, 1981). Der Referenzbereich wird mit 3,3 – 5 mmol/l angegeben (Kraft und Dürr, 2005).

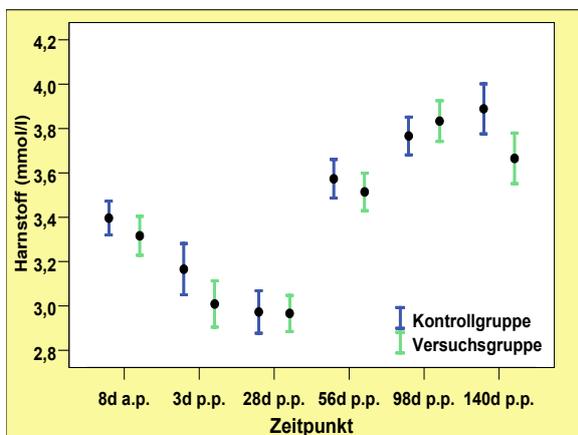


Abbildung 30 Harnstoff (mmol/l): Jungkühe

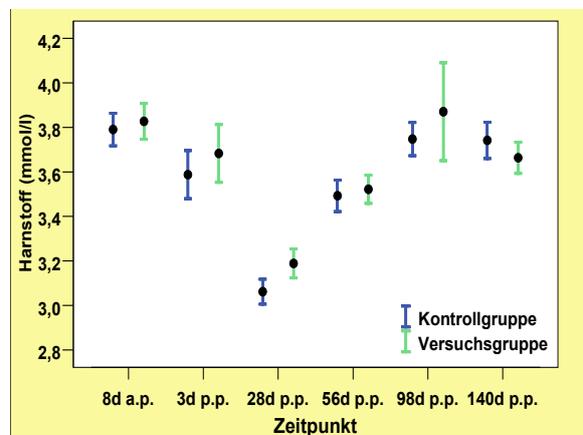


Abbildung 31 Harnstoff (mmol/l): Kühe

Sowohl bei den Jungkühen als auch bei den Kühen ist zu keinem Zeitpunkt der Untersuchung ein signifikanter Unterschied zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe in der Harnstoffkonzentration des Serums zu beobachten (Mann-Whitney-U-Test).

4.4.4 AST (Aspartat-Amino-Transferase)

Die AST gilt als nicht organspezifisch. Hohe Aktivitäten werden in Muskulatur und Leber nachgewiesen (Frahmen *et al.*, 1978; Gründer, 1991). Das Enzym kommt intrazellulär und in den Mitochondrien vor. Eine Aktivitätserhöhung beim Rind resultiert aus Skelett-, Herzmuskel- und Leberschädigungen (Fürl, 1997) und, wie von Sattler und Fürl (2002) beschrieben, aus Schädigungen des Uterus. Bei Belastungen des Leberstoffwechsels steigt die AST-Aktivität später als die Bilirubinkonzentration an, verbleibt aber länger auf erhöhtem Niveau. Der Referenzbereich liegt nach Fürl (2005) bei <80 U/l; am Tag 3 p.p. <100 U/l.

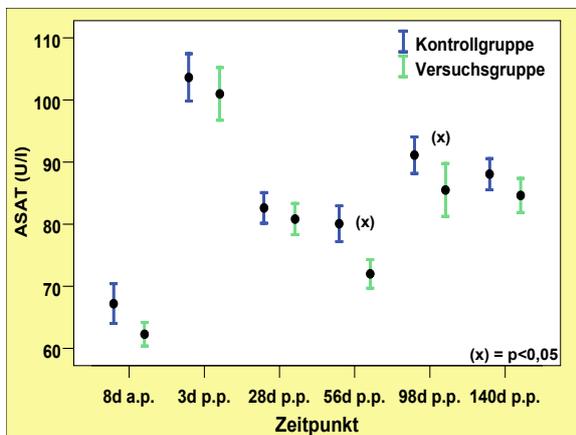


Abbildung 32 AST (U/l): Jungkühe

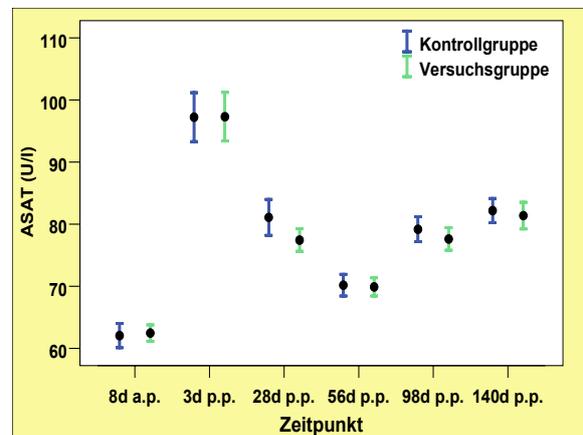


Abbildung 33 AST (U/l): Kühe

Der Verlauf der AST-Konzentrationen bei den Jungkühen zeigt p.p. Werte, die leicht über bzw. am oben angegebenen Referenzbereich liegen. Die AST-Konzentrationen bei den Kühen befinden sich durchweg im Referenzbereich.

Im Gruppenvergleich der Jungkühe ist am Tag 56 und 98 p.p. eine signifikant niedrigere AST-Konzentration in der Versuchsgruppe festzustellen ($p < 0,05$; Mann-Whitney-U-Test).

Ein Vergleich zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe bei den Kühen zeigt zu keinem Zeitpunkt signifikante Differenzen.

4.4.5 β -OH-Butyrat

β -OH-Butyrat (BHB) zählt neben Acetoacetat und Aceton zu den Ketonkörpern und wird aus messtechnischen Gründen bevorzugt bestimmt. BHB dient zum Nachweis von Ketosen (Hyperketonämie) und der Interpretation des Energiestoffwechsels (Fürl, 2002). Der Referenzbereich liegt bei <0,6 mmol/l bzw. am Tag 3 p.p. bei <0,85 mmol/l (Kraft und Dürr, 2005). Nach Staufenbiel (2001) liegt der Referenzbereich am Tag 3 p.p. bei 1 mmol/l.

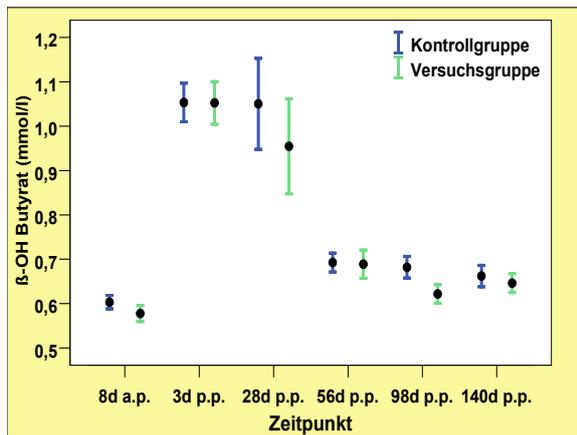


Abbildung 34 β -OH-Butyrat (mmol/l): Jungkühe

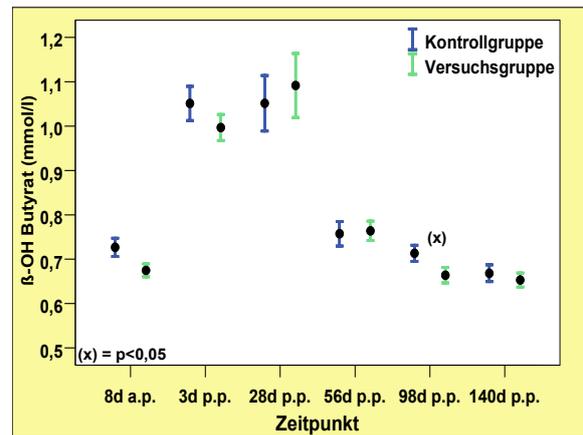


Abbildung 35 β -OH-Butyrat (mmol/l): Kühe

Bei Betrachtung der BHB-Konzentrationen ist insgesamt zu erkennen, dass die Werte bei den Jungkühen und Kühen zu allen Zeitpunkten und in beiden Gruppen leicht oberhalb des angegebenen Referenzbereichs liegen.

Im Gruppenvergleich der Jungkühe zeigt sich am Tag 28 p.p. lediglich ein leichter Trend für eine niedrigere BHB-Konzentration in der Versuchsgruppe, wobei sich im Mann-Whitney-U-Test keine statistische Signifikanz nachweisen lässt ($p=0,086$).

Bei den Kühen der Versuchsgruppe lässt sich am Tag 98 p.p. eine signifikant niedrigere Konzentration von BHB im Serum beobachten ($p<0,05$).

4.4.6 Non-Esterified-Fatty-Acids (NEFA)

Die aus dem Körperfett freigesetzten freien Fettsäuren zirkulieren in nicht veresterter Form (non-esterified-fatty-acids) und stellen eine wichtige Energiequelle für die Milchkuh p.p. dar (Drackley, 2002; Stevens und Olson, 1984). Die Konzentration der NEFA im Blut reflektiert dabei das Ausmaß der Fettmobilisierung (Pullen *et al.*, 1989) und dient der Frühdiagnostik von mit dem Fettmobilisationssyndrom vergesellschafteten Erkrankungen (Fürl, 2002; Kaneene *et al.*, 1997). Der Anstieg der NEFA weist auf einen akuten Energiemangel (Fürl und Schafer, 1992), der Anstieg der Ketonkörper hingegen auf einen manifesten Energiemangel hin (Scholz, 1990).

Nach Fürl (2005) liegt der Referenzbereich a.p. bei $<150 \mu\text{mol/l}$; am 3. Tag p.p. $<600 \mu\text{mol/l}$, und im weiteren Verlauf p.p. $<350 \mu\text{mol/l}$.

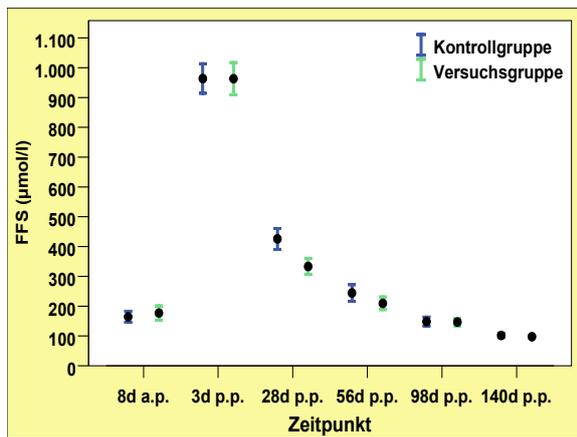


Abbildung 36 NEFA (µmol/l): Jungkühe

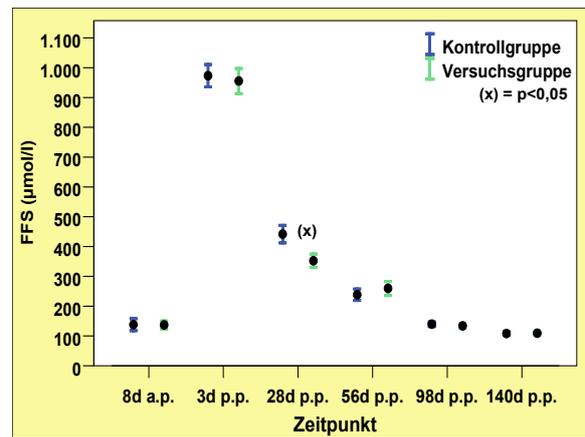


Abbildung 37 NEFA (µmol/l): Kühe

Der Verlauf der NEFA-Konzentrationen im Serum über den Versuchszeitraum zeigt postpartal eine deutliche Überschreitung des Referenzbereiches in beiden Gruppen, insbesondere am Tag 3 post partum. Zum Zeitpunkt 56 Tage p.p. befinden sich die gemessenen NEFA Konzentrationen innerhalb der oben angegebenen Referenz.

Am Tag 28 p.p. ist bei den Jungkühen im Gruppenvergleich mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ein leichter Trend für eine niedrigere NEFA-Konzentration in der Versuchsgruppe zu beobachten, wobei keine statistische Signifikanz besteht ($p=0,071$).

Am gleichen Untersuchungstag ist bei den Kühen hingegen die Differenz zwischen den Gruppen zu Gunsten der Versuchsgruppe signifikant ($p<0,05$).

4.5 Fruchtbarkeitskennzahlen

Die folgenden Daten geben Aufschluss über die Fruchtbarkeitsleistungen in der Versuchs- und der Kontrollgruppe.

4.5.1 Nachgeburtsverhaltung (NGV)

Über die Inzidenz der Nachgeburtsverhaltungen in beiden Gruppen geben die **Abb. 38** und **39** Aufschluss:

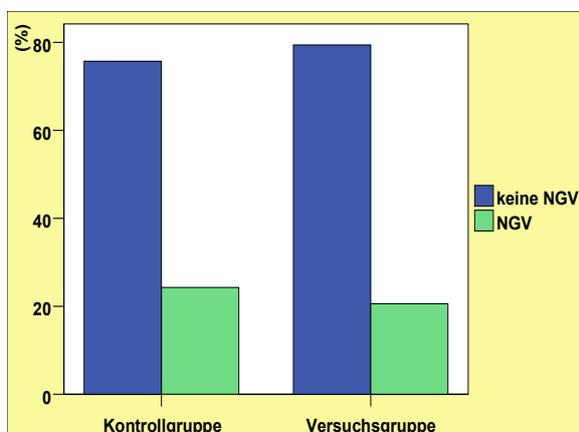


Abbildung 38 Inzidenz der NGV: Jungkühe

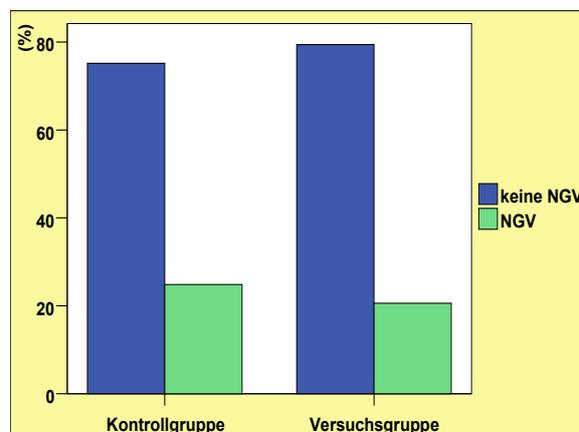


Abbildung 39 Inzidenz der NGV: Kühe

Die Inzidenz der NGV in der Versuchs- und Kontrollgruppe zeigt weder bei Jungkühe noch bei Kühen signifikante Unterschiede (exakter Test nach Fisher).

4.5.2 Weitere Fruchtbarkeitskennzahlen

Den folgenden Tabellen **15** u. **16** sind weitere Fruchtbarkeitskennzahlen, getrennt nach Jungkühen und Kühen, zu entnehmen.

Tabelle 15 Fruchtbarkeitskennzahlen der Jungkühe

	Versuchsgruppe	Kontrollgruppe	Zielgröße (x)
Besamungsindex	2,00	2,58	≤ 1,9
Trächtigkeitsindex	1,74	1,96	≤ 1,7
Nicht-Trächtigkeitsindex	3,20	4,00	-
Gesamträchtigkeitsrate (%)	92,54	86,76	≥ 90
Erstbesamungserfolg (%)	52,31	38,24	≥ 50
Zwischentragezeit (d)	120	131	105
% Tiere mit ZTZ < 115 d	54,84	50,85	≥ 75

(x) = nach Hoedemaker *et al.* 2007

Tabelle 16 Fruchtbarkeitskennzahlen der Kühe

	Versuchsgruppe	Kontrollgruppe	Zielgröße (x)
Besamungsindex	3,20	2,50	$\leq 1,9$
Trächtigkeitsindex	2,04	2,14	$\leq 1,7$
Nicht-Trächtigkeitsindex	3,63	3,33	-
Gesamträchtigkeitsrate (%)	74,60	91,59	≥ 90
Erstbesamungserfolg (%)	32,00	33,88	≥ 50
Zwischentragezeit (d)	129	134	105
% Tiere mit ZTZ < 115 d	47,37	42,20	≥ 75

(X) = nach Hoedemaker *et al.* 2007

4.6 Inzidenz ausgewählter Krankheitskomplexe

Die Inzidenz der folgenden 3 Krankheitskomplexe über den Versuchszeitraum wurde in den beiden Gruppen festgehalten:

- *Gebärparese (Milchfieber)*
- *Labmagenverlagerung (LMV)*
- *Mastitis*

4.6.1 Gebärparese

Bei den Jungkühen trat erwartungsgemäß keine Gebärpareseerkrankung auf. Die Daten der Kühe sind der **Abb. 40** zu entnehmen:

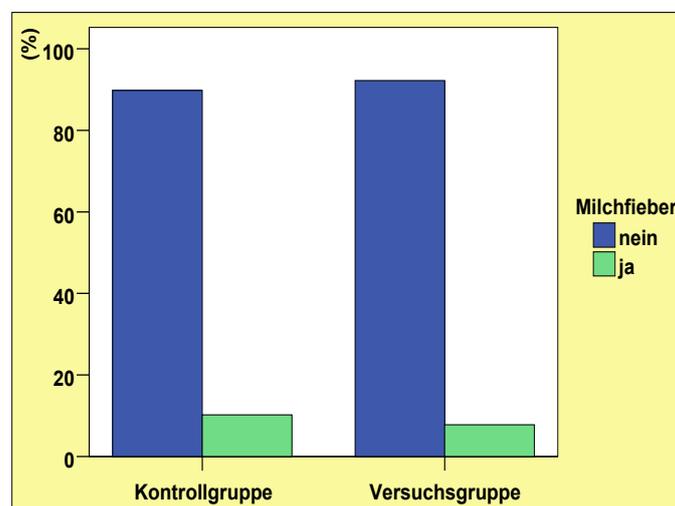


Abbildung 40 Milchfieber-Inzidenz bei den Kühen

Bei einer absoluten Anzahl von Erkrankungen von $n=14$ in der Kontrollgruppe und $n=11$ in der Versuchsgruppe ergibt sich im exakten Test nach Fisher kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p=0,534$).

4.6.2 Labmagenverlagerung (LMV)

Bei allen registrierten Fällen handelte es sich um eine linksseitige LMV. Bei den Jungkühen besteht bezüglich der Inzidenz kein signifikanter Unterschied. Bei den Kühen fällt auf, dass in der Kontrollgruppe eine deutlich größere Anzahl von Tieren ($n=7$) die Erkrankung aufwiesen als in der Versuchsgruppe ($n=1$). Dieser Unterschied ist statistisch signifikant ($p=0,034$; exakter Test nach Fisher).

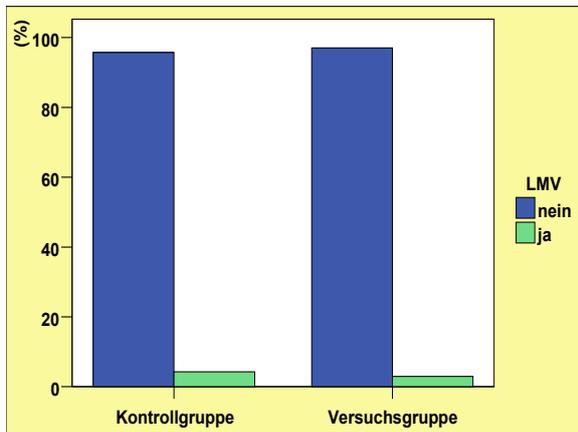


Abbildung 41 Inzidenz LMV: Jungkühe

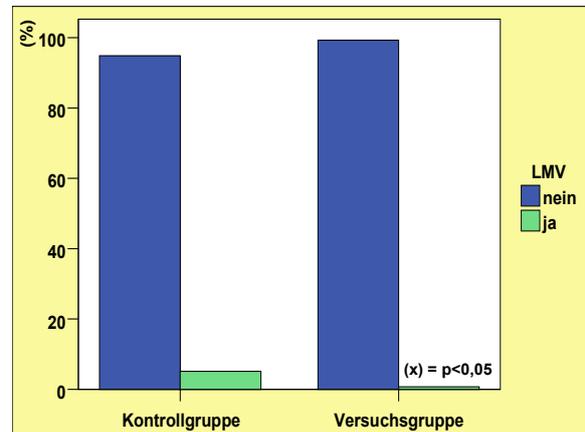


Abbildung 42 Inzidenz LMV: Kühe

4.6.3 Mastitis

Bezüglich der Inzidenz von Euterentzündungen in der Versuchs- und der Kontrollgruppe gibt es keine statistisch signifikanten Unterschiede (exakter Test nach Fisher). Es sind alle Tiere erfasst worden, die im Versuchszeitraum ein- oder auch mehrfach an einer Euterentzündung erkrankt waren. Bei den Kühen erkrankten in beiden Gruppen etwa 30 % der Tiere an einer Mastitis während der Versuchsperiode von 150 Tagen.

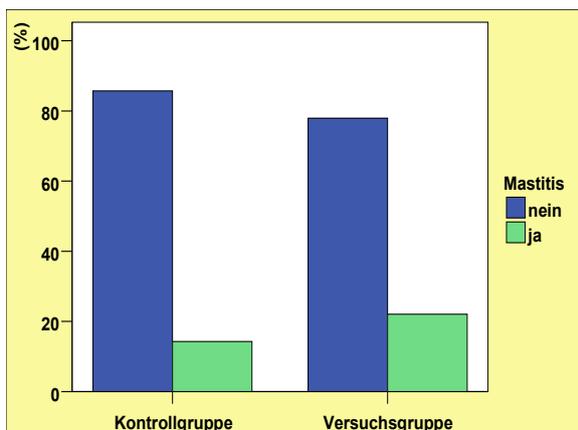


Abbildung 43 Mastitis-Inzidenz: Jungkühe

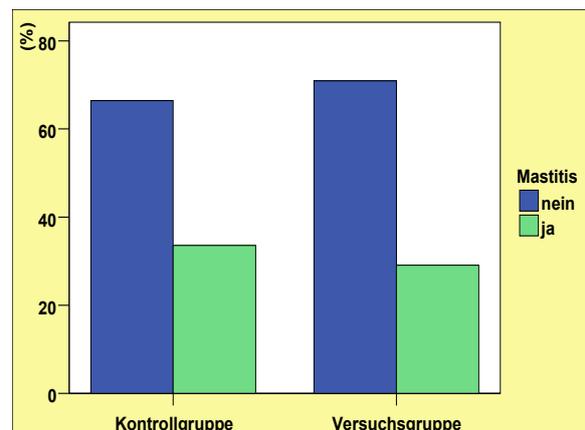


Abbildung 44 Mastitis-Inzidenz: Kühe

4.7 Bestimmung der Menge des vorgelegten Futters

Die auf dem Betrieb vorhandene Mess- und Wiegetechnik erlaubte die Dokumentation der täglich vorgelegten Futtermengen in beiden Gruppen. Die Gruppengröße variierte beinahe täglich um einige Tiere und es waren in den jeweiligen Stallabteilungen stets Tiere untergebracht, die nicht am Versuch teilnahmen. Eine exakte Aussage über die Futteraufnahme des Einzeltieres war daher nicht möglich. Die Futterreste, die einmal täglich verworfen wurden, waren gering (gewogene Stichproben in der Größenordnung $< 1\%$ der vorgelegten Futtermenge). Die Daten über die Menge des vorgelegten Futters können somit nur zur Orientierung dienen und erlauben keine Bewertung im Sinne eines Vergleichs zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe.

Die Säulen im Balkendiagramm (**Abb. 45**) repräsentieren einen errechneten Mittelwert über 7 Tage. Beim Vergleich von Versuchs- und Kontrollgruppe sind nur geringe Unterschiede über den Versuchszeitraum zu beobachten.

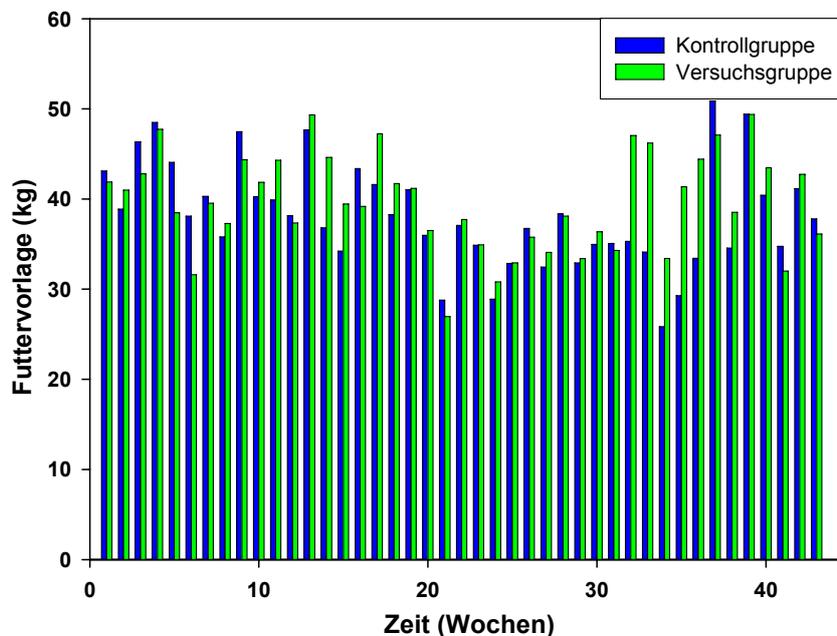


Abbildung 45 vorgelegte Futtermengen (kg) über den Versuchszeitraum

4.8 Weitere Untersuchungen zum Verlauf der Körperkondition (unabhängig von der Supplementation exogener Enzyme)

Aus den zur Verfügung stehenden Daten wurden weitere Untersuchungen angestellt, die im Folgenden erläutert werden sollen. Dabei handelt es sich um Gruppen-übergreifende Betrachtungen, die *unabhängig* von einer Enzym-Supplementation vorgenommen wurden. Ziel dieser Untersuchung war dabei folgende Hypothese:

Es ist gut bekannt und allgemeines Lehrbuchwissen, dass Kühe mit dem Einsetzen der Milchproduktion Fettreserven mobilisieren, um den enormen Energiebedarf insbesondere zu

Laktationsbeginn zu decken. Dabei geben Kühe, die viel Fett mobilisieren, in der Regel mehr Milch als Tiere, die vergleichsweise wenig Körperfett mobilisieren. Es sollte die Hypothese geprüft werden, ob es eine Untergruppe von Tieren mit ausgesprochen niedriger Mobilisierungsrate bei *gleichzeitig* hoher Milchleistung gibt. In diesem Falle wäre eine höhere Futteraufnahme, eine bessere Futtermittelverwertung und/oder eine größere Kapazität für intestinale Absorption zu vermuten.

Dazu wurde folgender Versuchsansatz gewählt: Zunächst wurden nur die Daten der Jungkühe und Kühe aus den beiden am Versuch teilnehmenden Gruppen berücksichtigt, die *nicht* an einem der oben beschriebenen Krankheitskomplexe (Milchfieber, LMV, Mastitis) erkrankt waren. Die Tiere wurden aufsteigend anhand der errechneten Fettmobilisierung zwischen Tag 3 und Tag 98 p.p. angeordnet und dann in drei gleich große Gruppen (je n=86) geteilt. Insgesamt standen so die Daten von 96 Jungkühen und 162 Kühen (258 Tiere) zur Verfügung.

- **HM-Gruppe** (*High Mobilization-Group*; Abnahme der RFD zwischen 16-27 mm)
- **MM-Gruppe** (*Middle Mobilization-Group*; Abnahme der RFD zwischen 13-15 mm)
- **LM-Gruppe** (*Low Mobilization-Group*; Abnahme der RFD zwischen 8-12 mm)

Von Interesse waren die „HM“ und die „LM“ Gruppe; Tiere aus der „MM“-Gruppe wurden nicht weiter berücksichtigt. Der Tag 3 p.p. wurde als Ausgangspunkt gewählt, da hier bei allen Tieren das gemessene Maximum der RFD vorlag. So stellte der Tag 3 p.p. den Bezugspunkt dar und der gemessene Wert wurde 100% RFD gesetzt; die anderen Zeitpunkte wurden relativ zu diesem Messtag in % angegeben.

Parameter für den Vergleich der HM und LM-Gruppe waren die Milchleistung über 98 Tage, die Serumkonzentration der NEFA und die Länge der Zwischentragezeit.

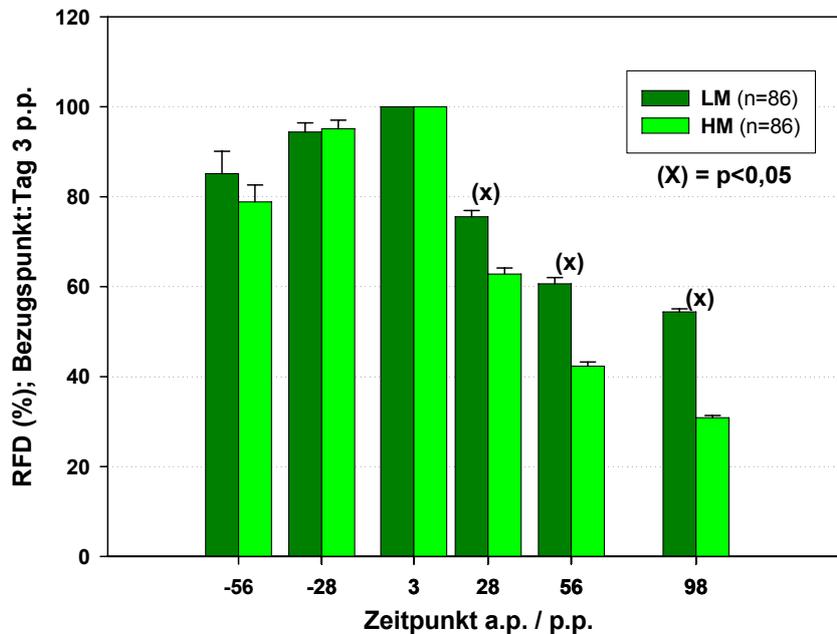


Abbildung 46 Vergleich der RFD-Entwicklung in der LM- und HM-Gruppe

An den Zeitpunkten 28, 56 und 98 p.p. besteht ein signifikanter Unterschied bezüglich des vorhandenen Rücken fett-Anteils ($p < 0,05$; Mann-Whintney-U-Test). Dies war zu erwarten, da die Tiere ihrer Mobilisierungsrate nach aufsteigend angeordnet und danach den Gruppen **LM** und **HM** zugeteilt wurden.

Beispielhaft sei hier der Tag 98 p.p. erläutert: Die LM-Gruppe besitzt im Mittel noch etwa 50 % des RFD-Ausgangswertes.; die HM-Gruppe weist am gleichen Tag nur noch etwa 30 % des RFD-Wertes zum Zeitpunkt der Geburt auf.

Beim Vergleich der Gesamtmilchleistung über 98 Tage zeigt sich wie erwartet auch ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$; t-Test): Die Tiere der **LM**-Gruppe gaben in diesem Zeitraum 3207 ± 638 kg Milch, während die Tiere der **HM**-Gruppe 3495 ± 699 kg Milch produzierten.

Bei Betrachtung der Laktationskurven mit den täglichen Milchmengen und den sich stark überschneidenden Standardabweichungen wird deutlich, dass die Unterschiede zwischen der **LM**- und der **HM**-Gruppe pro Tag gering sind. Aus diesem Grund wurden die Tiere aus der Gruppe mit der niedrigen Mobilisationsrate (**LM**) in einem 2. Schritt entsprechend der erbrachten Milchleistung geordnet. Die Laktationskurve der besten 15 Kühe wurde in der folgenden **Abb. 47** ergänzt: Zur der besseren Übersichtlichkeit sind hier die Mittelwerte ohne Fehlerbalken aufgetragen.

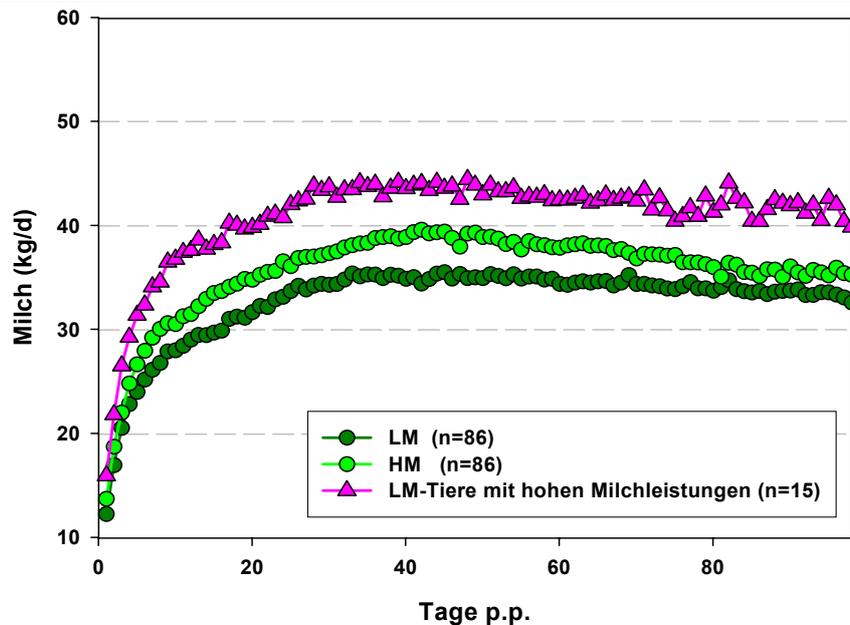


Abbildung 47 Laktationskurven der LM- und HM Gruppen

Es ist zu beobachten, dass die 15 Tiere aus der **LM**-Gruppe mit den höchsten Milchleistungen (bei gleichzeitig moderater Abnahme der RFD) im täglichen Mittel über den Milchleistungen der Tiere mit (sehr) hoher Mobilisierungsrate liegen.

Bezüglich der **NEFA**-Konzentration im Serum wurden beim Gesamt-Gruppenvergleich (**Abb. 48**) signifikant niedrigere Konzentrationen am Tag **3**, **28** und **56** p.p. in der **LM**-Gruppe beobachtet ($p < 0,05$; Mann-Whitney-U-Test), wobei auch die LM-Gruppe im Mittel über dem oben angegebenen Referenzwert von $600 \mu\text{mol/l}$ am Tag 3 p.p. lag. Nach der Anzahl der Laktationen getrennt ergaben sich bei den Jungkühen signifikant niedrigere NEFA-Konzentrationen am Tag **56** p.p. und bei den Kühen am Tag **3** und **28** p.p. ($p < 0,05$), (**Abb. 49** und **50**).

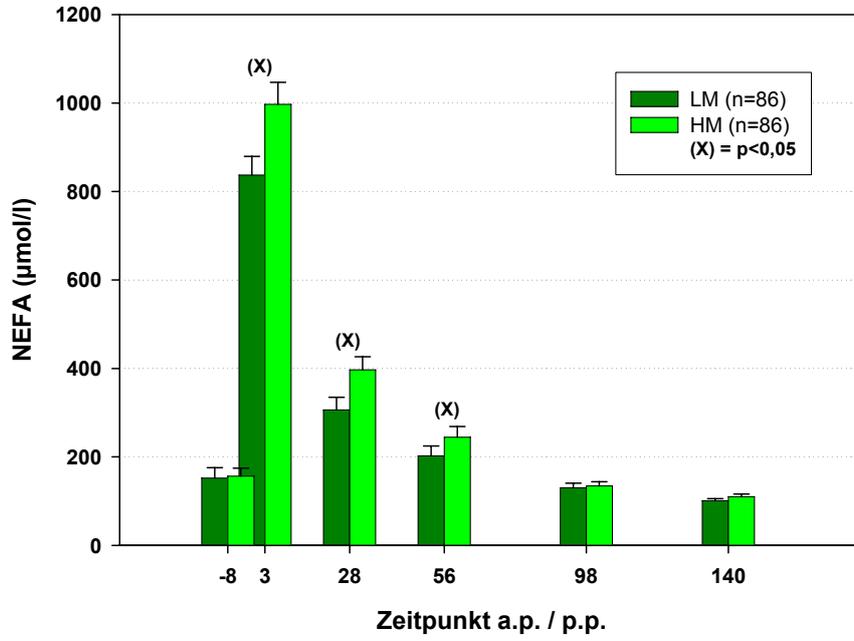


Abbildung 48 NEFA-Konzentrationen in der LM- und HM Gruppe

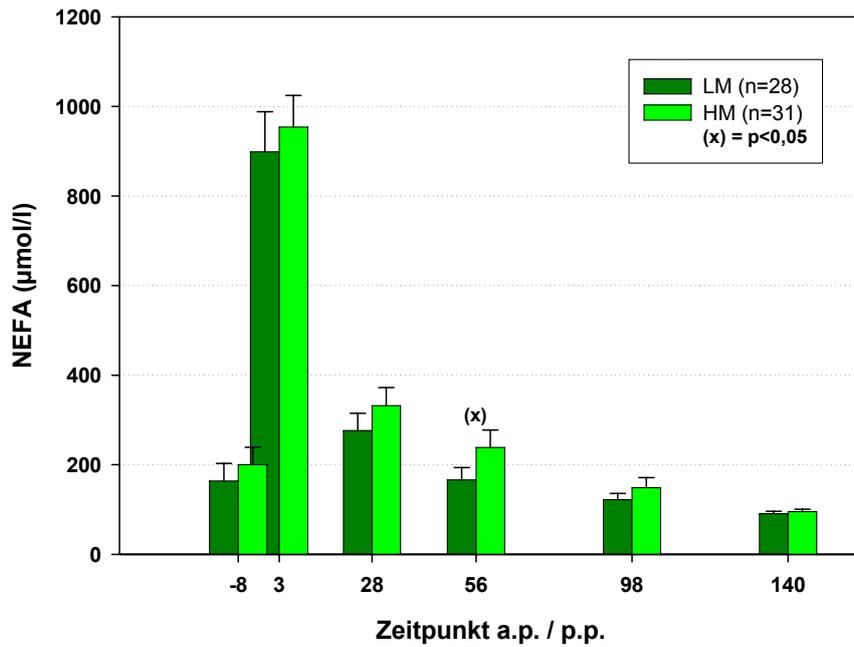


Abbildung 49 NEFA-Konzentrationen in der LM- und HM-Gruppe: Jungkühe

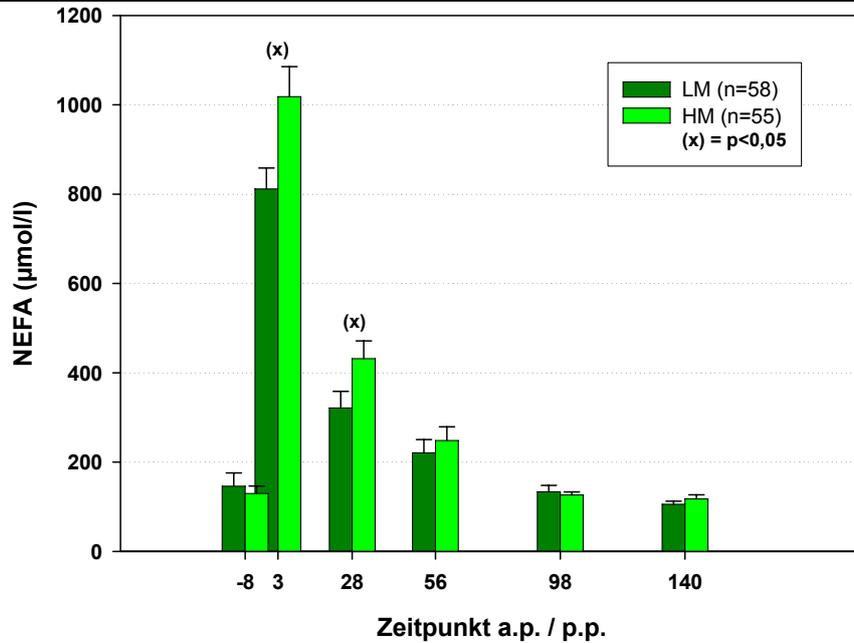


Abbildung 50 NEFA-Konzentrationen in der LM- und HM-Gruppe: Kühe

Die **Zwischentragezeit (ZTZ)** war in der LM-Gruppe kürzer; dies trifft für die Gesamtgruppen wie auch für Jungkühe und Kühe getrennt zu. Dabei ist der Unterschied zwischen den Gesamtgruppen und zwischen den Kühen signifikant ($p < 0,05$; Mann-Whitney-U-Test). Bei den Jungkühen war der Unterschied statistisch nicht zu sichern.

Tabelle 17 Zwischentragezeit in der LM- und HM-Gruppe

ZTZ	LM (\pm SD)	HM (\pm SD)
Gruppe	123 (\pm 59) (x)	139 (\pm 56)
Jungkühe	126 (\pm 63)	130 (\pm 46)
Kühe	119 (\pm 56) (x)	144 (\pm 60)

(X) = $p < 0,05$

5 Diskussion

Der Einsatz von exogenen Enzymen ist bei monogastrischen landwirtschaftlichen Nutztieren (Broiler, Legehennen, Schweine) seit vielen Jahren üblich. Als Beispiel sei hier der Zusatz von *Phytasen* in kommerziellen Futtermischungen für Schweine erwähnt. Die natürlicherweise in Pflanzen vorkommende Phytinsäure hat komplexbildende Eigenschaften und kann daher im Magen und Darm Mineralstoffe unlöslich binden, so dass diese dem Organismus nicht mehr zur Verfügung stehen. Das Enzym Phytase baut Phytin hydrolytisch ab und setzt so das gebundene Phosphat frei. Auf diese Weise wird der in den Pflanzen vorkommende Phosphor für den Tierorganismus verfügbar gemacht. Die Supplementation mit anorganischem Phosphat kann damit vermindert werden, was auch zu einer Entlastung des Abwassers durch ausgeschiedenes Phosphat führt (Harland und Oberleas, 2001).

Ein weiteres Beispiel für den etablierten Einsatz von Enzymen bei Monogastriern sind die NSP-hydrolysierenden Enzyme in der Schweine- und Geflügelfütterung. Hier kommen vor allem Xylanase- und β -Glucanase Aktivitäten zum Einsatz (Graham *et al.*, 1989; Haberer *et al.*, 1998). Ziel einer Verwendung ist eine größere Lebendmassezunahme bei geringerem Futteraufwand sowie eine Herabsetzung der durch die NSP hervorgerufenen antinutritiven Effekte (Bedford, 1995; Förster, 2003; Ikegami *et al.*, 1990). Beim Geflügel wird insbesondere die Viskositätssenkung des Darmchymus für den leistungssteigernden Effekt verantwortlich gemacht, was beim Schwein nur eine geringe Rolle spielt (Haberer und Schulz, 1998). Hier ist der Einfluss auf die Mikrobiota von entscheidender Bedeutung für eine Leistungssteigerung (Simon *et al.*, 2002). Bestimmte Mikroorganismen werden gefördert und andere zurückgedrängt.

Der Einsatz von exogenen Enzymen bei **Wiederkäuern** stand bereits in den 1960er Jahren im Forschungsinteresse und wurde seitdem und bis heute kontrovers diskutiert. Es sind Studien an Schafen, Mastrindern und laktierenden Kühen durchgeführt worden. Aufgrund der sehr unterschiedlichen und zum Teil widersprüchlichen Resultate der Studien und der seiner Zeit hohen Produktionskosten schien das Forschungsinteresse zu schwinden. In den letzten Jahren wurden wieder vermehrt Anstrengungen unternommen, die Wirkungsmechanismen entsprechender Enzymformulierungen bei der Verfütterung an Wiederkäuer zu verstehen und so die Entwicklung effektiver kommerzieller Produkte voran zu treiben (Annison, 1997; Beauchemin *et al.*, 2004a; Beauchemin *et al.*, 2004b; Beauchemin *et al.*, 2001; Beauchemin und Rode, 1996; Officer, 2000; Rode *et al.*, 2001; Wang und McAllister, 2002). Der Einsatz von exogenen Enzymen bei Wiederkäuern wirft die Frage auf, welche Enzymaktivitäten sinnvoll und kompatibel zu unterschiedlichen Rationszusammensetzungen sind. Die Applikationsart, -dosis und Inkubationszeit sowie mögliche Wirkungsorte (Futter, Pansenmilieu, postruminaler Verdauungstrakt) sind ebenfalls Untersuchungsgegenstand.

In der durchgeführten Feldstudie wurden Untersuchungen zum Einfluss von 2 Enzymen (**Cellulase, α -Amylase**) auf einige Leistungsparameter bei Milchkühen durchgeführt. Dabei

sind nach dem Wissensstand des Autors die Kombination der 2 Produkte (Enzymaktivitäten), die Größenordnung des Versuches (416 Tiere über jeweils 171 Versuchstage), und die Auswahl der Versuchsparameter bislang einmalig. Viele frühere Studien untersuchten vor allem Effekte von fibrolytischen Enzymen, wobei amylolytische Eigenschaften eher Nebenaktivitäten dieser fibrolytischen Formulierungen waren (Hristov *et al.*, 2000; McAllister *et al.*, 1999). In aktuellen Studien, bei denen α -Amylase als Hauptaktivität verwendet wurde, berichteten Tricarico *et al.* (2007; 2005) von einer Steigerung der Milchproduktion sowie von Gewichtszunahmen und positiven Effekten auf die Beschaffenheit von Schlachtkörpern, während DeFrain *et al.* (2005) eine Verbesserung in der Energiebalance von Kühen in der Transitperiode verzeichnete, so dass auch der Einsatz von kommerziellen Amylasen viel versprechend erscheinen könnte. Ein möglicher Wirkungsort einer zugesetzten Amylase könnte dabei der postruminale Verdauungstrakt sein (Wirkung auf die ByPass-Stärke), wenn das eingesetzte Präparat eine entsprechende Stabilität besitzt. In der vorliegenden Studie wurden 2 separate Enzymformulierungen eingesetzt, die zum einen fibrolytische und zum anderen amylolytische Aktivitäten aufweisen. Es sollte die Hypothese überprüft werden, dass eine Enzymsupplementation positive Effekte hinsichtlich der Produktivität, der Energiebalance und Fruchtbarkeitsleistungen der Tiere mit sich bringt. Dabei wurde erwartet, dass sich zum Laktationsbeginn eventuelle Leistungsverbesserungen in der Milchmenge niederschlagen, wie es z.B. Voigt *et al.* (2005) bei Verfütterung einer mit Fett angereicherten Ration beschrieben haben. Im weiteren Verlauf wären eine verbesserte Energiebalance und damit einhergehende Fruchtbarkeitsleistung sowie ein besserer Immunstatus der Versuchstiere denkbar.

5.1 Bewertung der Versuchsparameter

Zur Überprüfung der Arbeitshypothese erfolgt im Weiteren die Bewertung der Versuchsergebnisse.

5.1.1 Milchleistung

Signifikante Unterschiede in der kumulierten Milchleistung zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe sind bei den Kühen (≥ 2 .Laktation) in den ersten 10 und 30 Tagen p.p. zu beobachten gewesen. Bei der Bewertung des hochsignifikanten Unterschiedes in den ersten 10 Laktationstagen muss hier einschränkend angeführt werden, dass auch die Kontrolltiere in den ersten 3 Tagen p.p. eine Enzymsupplementation erhielten, da eine getrennte Fütterung von Versuchs- und Kontrolltieren im Reproduktionsabteil der MVA nicht möglich war. Für die Kontrollgruppe erfolgte somit eine abrupte Änderung der Rationszusammensetzung, da die Supplementation der Enzyme nicht fortgeführt wurde. Es ist davon auszugehen, dass die Kontrolltiere eine gewisse Adaptionszeit zur Anpassung an die veränderte Ration benötigen haben. Außerdem zeigen die Versuchstiere gleich zu

Laktationsbeginn eine höhere Milchleistung (bei bis dahin gleicher Fütterung), so dass ein Gruppierungseffekt (durch die Zuteilung zu den Gruppen) nicht völlig ausgeschlossen werden kann.

Des Weiteren erfolgte in dieser Zeit die Bestimmung der täglichen Milchmenge in den ersten 3 Tagen p.p. nicht über das automatische System des Melkkarussells, sondern die Tiere wurden mit einer zweiten Melkanlage „in die Kanne“ gemolken und die Milchmengen von den Melkern/-innen unmittelbar an der Kanne abgelesen und schriftlich festgehalten. Die so durchgeführte Milchmengenerfassung und -dokumentation ist trotz Sorgfalt sicherlich anfälliger für Fehler, als dies beim computergestützten Melkkarussell der Fall ist.

Die kumulierte Milchleistung der ersten 30 Laktationstage unterscheidet sich signifikant ($p < 0,05$), und in den ersten 50 Tagen zeigt sich ein Trend ($p = 0,085$) für eine höhere Milchleistung in der Versuchsgruppe. Die einschränkenden Beobachtungen (Änderung der Rationszusammensetzung, möglicher Gruppierungseffekt, Milchmengenerfassung in den ersten Tagen p.p.) müssen bei der Bewertung der unterschiedlichen Milchleistungen zu Laktationsbeginn berücksichtigt werden. Es ist somit kaum von einem Enzym-induzierten Effekt auszugehen. Die Gesamtmilchleistungen über den Versuchszeitraum unterscheiden sich zwischen den Jungkühen und Kühen der beiden Gruppen nicht signifikant, was bei der oben angeführten Arbeitshypothese allerdings auch nicht erwartet wurde. Andere Autoren fanden bei einer TMR-Supplementation mit exogenen Enzymen ebenfalls geringe Auswirkungen auf die Gesamtmilchleistung (Beauchemin *et al.*, 2000; Beauchemin *et al.*, 1999b; Yang *et al.*, 2000).

5.1.2 Daten der Milchleistungsprüfungen (MLP)

Grundsätzlich ist die Zusammensetzung der Milchinhaltsstoffe durch eine Verwendung von Enzymprodukten nur wenig verändert worden. Jedoch wird in einigen Studien von einer Konzentrationszunahme (Beauchemin *et al.*, 1999b; Bowman *et al.*, 2002; Schingoethe *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 1999; Zheng *et al.*, 2000) oder auch einer Konzentrationsabnahme (Fredeen und Mcqueen, 1993; Kung *et al.*, 2000; Lewis *et al.*, 1999; Rode *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2000) an Fett, Protein und Laktose bei supplementierten Milchkühen berichtet. Der Melktag (**MT**) der Laktation, an dem die jeweilige Probenentnahme im Rahmen der Milchleistungsprüfung (MLP) stattfand, unterscheidet sich bei den Kühen zum Zeitpunkt der MLP 3-5 signifikant. Hier fand im Durchschnitt die MLP in der Versuchsgruppe etwa 2 Tage früher statt. Dieser zeitliche Unterschied ist zu vernachlässigen und entstand durch die für einen Vergleich notwendige Blockbildung mit den 30-Tages-Intervallen. Bei der Bewertung der Milchmengen (**kg**) sei auf den obigen Abschnitt sowie den Abschnitt 4.1 (Ergebnisse) verwiesen, die aufgrund der lückenlosen täglichen Erfassung der Gemelke aussagekräftiger sind.

Der **Milchfettgehalt** unterscheidet sich bei den Jungkühen und Kühen zu keinem Zeitpunkt signifikant. Zum Zeitpunkt der MLP 1 ist in beiden Gruppen der Fettanteil erhöht, was mit der Lipolyse von Körperfett in der Früh lactation erklärt werden kann (Kraft und Dürr, 2005). Im Zuge der Enzymsupplementation ist als positiv zu bewerten, dass es zu keiner Abnahme des Milchfettgehaltes in der Versuchsgruppe gekommen ist, wie es in anderen Studien beobachtet wurde (Rode *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2000). Eine mögliche Hypothese, wie es zu einer Abnahme des Milchfettanteils in anderen Studien mit exogenen fibrolytischen Enzymen gekommen sein könnte, beschreibt Rode (2006) in einer persönlichen Mitteilung. Danach führt das Vorhandensein von trans-FS und konjugierter Linolsäure im Pansen zu einer verminderten Milchfettkonzentration. Viele Pansenbakterien sind in der Lage, Fette abzubauen und sie teilweise zu trans-FS und konjugierter Linolsäure zu hydrogenisieren. Dies sei als ein Versuch der Selbsterhaltung zu sehen, der die FS weniger toxisch für die Mikroorganismen macht. Für eine komplette Detoxifikation ist eine vollständige Sättigung der FS nötig. Zu der letzten Hydrogenisierung ist nur eine kleine Gruppe von Bakterien (*Butyrovibrio*) in der Lage, die so die trans-FS aus dem Pansen entfernen. Unter physiologischen Bedingungen ist das cis-9, trans-11 Isomer der konjugierten Linolsäure die vorherrschende konjugierte Linolsäure, die im Pansen gebildet wird. Wenn nun die Bedingungen des Pansenmilieus bestimmten Spezies von *Propionsäurebakterien* ein Wachstum ermöglichen (niedriger pH, im Pansen abbaubare Stärke), so sind diese für die Produktion von trans-10, cis-12 konjugierter Linolsäure verantwortlich. So lange nun die Spezies *Butyrovibrio* in ausreichender Anzahl zur Sättigung der konjugierten Linolsäure und trans-FS vorhanden sind, wird keine Abnahme der Milchfettkonzentration zu beobachten sein. Wenn jedoch die metabolische Aktivität dieser Bakterien gefährdet ist, so sind auch Auswirkungen auf den Gehalt an Milchfett wahrscheinlich.

Der **Proteingehalt** ist insgesamt als niedrig zu bewerten. Zum Zeitpunkt der MLP 2 liegt er bei Jungkühen und Kühen um 2,8 %, und im weiteren Verlauf ist ein leichter Anstieg zu verzeichnen, wobei die Grenze von 3,2 % nur bei der MLP 5 überschritten wird. So sind die niedrigen Proteingehalte insgesamt durch eine deutliche Unterversorgung mit Energie und damit einhergehender verminderter Proteinsynthese im Pansen zu erklären (Kraft und Dürr, 2005).

Weitere Hinweise auf die energetische Unterversorgung geben die Betrachtung der RFD-Messungen, Blutparameter und Fruchtbarkeitskennzahlen, die später erläutert werden sollen. Beim Vergleich der Versuchs- mit der Kontrollgruppe bei den Kühen ist zu den Zeitpunkten der MLP 3-5 ein signifikant niedrigerer Proteingehalt bei den supplementierten Tieren zu finden (im Mittel zwischen 0,07 und 0,1 %). Hierfür kann bei Einbeziehung der anderen Versuchsparameter keine eindeutige Ursache ausgemacht werden. Beauchemin *et al.* (1999b) fanden im Gegensatz zu den hier vorliegenden Ergebnissen signifikant höhere Proteingehalte bei den Tieren, die Enzyme erhielten. Der Gehalt an **Harnstoff** in der Milch liegt zu allen Zeitpunkten in beiden Gruppen im Referenzbereich von 150-300 mg/l (Kraft und

Dürr, 2005). Bei den Jungkühen ist zu den Zeitpunkten der MLP 1-3 ein Trend für niedrigere Harnstoffgehalte in der Versuchsgruppe zu finden; zum Zeitpunkt MLP 2 besteht eine Signifikanz. Bei den Kühen sind diese Beobachtungen nicht deutlich. Bei der Betrachtung der Eiweiß- und Harnstoffgehalte in der Milch liegt der Schluss nahe, dass in den Gruppen eine deutliche Energieunterversorgung bei ausreichender Proteinversorgung vorliegt.

Die **Zellzahlen** in den Milchproben der Versuchs- und Kontrollgruppen unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt signifikant. Insgesamt ist die große Streuung innerhalb des Referenzbereiches dieses Parameters zu beachten.

Der **Laktosegehalt** unterscheidet sich zu keinem Zeitpunkt signifikant. Der niedrige Laktosegehalt zum Zeitpunkt MLP 1 ist durch die unzureichende Energieversorgung zu Laktationsbeginn zu erklären.

Bei der Bewertung der MLP Daten kann festgestellt werden, dass es zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe nur geringfügige Unterschiede (mit Ausnahme des signifikant niedrigeren Proteingehaltes in der Versuchsgruppe zu den Zeitpunkten MLP 3-5) gibt. Es kann die Aussage getroffen werden, dass im Tierbestand der MVA zu Laktationsbeginn ein deutliches Energiedefizit zu erkennen ist. Diese Erkenntnis wird auch durch die Auswertung der sonographischen Rückenfettdicken-Messung bestätigt.

5.2 Rückenfettdicke

Die Körperkondition der Tiere wurde im Versuchszeitraum an 6 (Jungkühe 5) verschiedenen Zeitpunkten mit Hilfe der sonographischen Messung der RFD ermittelt. Diese Methode dient der objektiven Beurteilung des subkutanen Fettdepots (Schroeder, 2000; Schroeder und Staufenberg, 2006; Staufenberg, 1997), das mit 27 % nach dem intramuskulären Fettanteil die zweitstärkste Fraktion des Gesamtkörperfettgehaltes darstellt (Cianzio *et al.*, 1982). Wittek *et al.* (2002) wiesen in Untersuchungen aufgrund von Unterschieden zwischen der sonographischen RFD-Messung und der intraabdominalen Fettverteilung eine individuell unterschiedliche Fettverteilung nach. Nach Staufenberg (1993) entspricht eine Änderung von 1 mm RFD einer Ab- bzw. Zunahme von etwa 5 kg Körperfett bzw. 200 MJ Nettoenergie. In der Trockensteherzeit vom Tag 56 a.p. bzw. Tag 28 a.p. an zeigt sich bei Kühen und Jungkühe in beiden Gruppen eine leichte Zunahme der RFD in der Größenordnung von 2-3 mm; zum Zeitpunkt der Geburt sind die Gruppen im Mittel als gleich konditioniert zu beurteilen. Der Tag 3 p.p. wurde aufgrund des hier gemessenen Maximalwertes der RFD beim Einzeltier als Ausgangspunkt für die Beurteilungen der Fettmobilisierung in der Laktation gewählt (s. **Abb. 22 und 23** im Ergebnisteil). Insgesamt zeigt sich bei der Auswertung der RFD Messungen nach der Abkalbung ein Problem auf Bestandesebene. Nach Schroeder (2000) ist im 1. Monat p.p. eine tägliche Abbaurate bis 0,14 mm RFD/Tag zu tolerieren. Des Weiteren sollte die Minimalkörperkondition im Herdendurchschnitt nicht unter 13 mm RFD liegen (Schroeder, 2000). Die gemessene Abbaurate in der

durchgeführten Untersuchung ist im ersten Laktationsmonat doppelt so hoch wie die von Schroeder (2000) beschriebene Grenze. Außerdem wird die Minimalkondition von 13 mm RFD in beiden Gruppen deutlich unterschritten. In der **Kontrollgruppe** ist bis zum letzten Zeitpunkt der Messung (140 Tage p.p.) im Mittel eine Abnahme der RFD zu verzeichnen. Tiere der **Versuchsgruppe** nehmen zwischen der vorletzten (Tag 98 p.p.) und letzten Messung wieder an Körperkondition zu. Die Bestimmung der Mobilisation zwischen dem Tag 3 und 140 p.p. ergibt im Gruppenvergleich bei den Kühen einen signifikanten Unterschied zu Gunsten der Versuchsgruppe. Im Zeitintervall zwischen Tag 98 und 140 p.p. ist sowohl bei den Jungkühen als auch bei den Kühen der Versuchsgruppe eine signifikant geringere Abnahme der RFD festzustellen. Insgesamt zeigen beide Gruppen eine stark ausgeprägte und lang andauernde Fettmobilisation im Laufe der Laktation, so dass man alle Kühe im Zeitraum der Hochlaktation als deutlich unterkonditioniert bewerten muss. Gallo *et al.* (1996) beobachteten bei Jungkühen eine geringere Mobilisation von Körperfett als bei mehrkalbigen Kühen, was sie auf die niedrigere Laktationsleistung zurückführten. Diese Beobachtung kann in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden; nach der Kalbung mobilisieren Jungkühe und Kühe im gleichen Ausmaß Körperfett. Andere Untersuchungen fanden bei Hochleistungskühen ebenfalls eine stark ausgeprägte NEB: Van den Top *et al.* (2005) berichten von einer täglichen Abnahme des Körpergewichtes von bis zu 4 kg und Bulang *et al.* (2006) beschreiben ebenfalls eine mehr als 100 Tage lang andauernde NEB, was ein Drittel der Laktationsperiode darstellt. Diesen Beobachtungen sollte grundsätzlich große Aufmerksamkeit geschenkt werden, da der Zusammenhang zwischen massivem Verlust der Körperkondition bei hohen Milchleistungen und schlechter Fruchtbarkeit (Beam und Butler, 1999; Butler, 2003; Lucy, 2001; Westwood *et al.*, 2002), erhöhter Krankheitsanfälligkeit (Buttgereit *et al.*, 2000; Fleischer *et al.*, 2001; Ingvarsen, 2006) und gesteigerten Abgangsraten (Schroeder, 2000; Thomsen und Houe, 2006) angenommen werden kann.

5.3 Blutparameter

5.3.1 Energie- und Fettstoffwechsel

Die Blutparameter in der vorliegenden Studie sind in Untersuchungen mit einer Supplementation von exogenen Enzymen bei Milchkühen in dieser Zusammenstellung bisher nicht untersucht worden. Lediglich DeFrain *et al.* (2005) untersuchten NEFA und BHB-Konzentrationen zu jeweils einem Zeitpunkt vor und nach der Geburt bei Supplementation einer α -Amylase.

Die durch die Messung der RFD gemachten Beobachtungen zum Energiestoffwechsel lassen sich anhand der Blutparameter bestätigen. So spiegelt sich die massive Mobilisierung von Körperfett im ersten Laktationsdrittel auch in den Serumkonzentrationen von **BHB** und den **NEFA** wider.

Die **BHB** Konzentrationen liegen zu fast allen Zeitpunkten leicht über dem oberen Referenzbereich. Eine erhöhte Ketonkörperkonzentration ist nach Scholz (1990) Ausdruck eines manifesten Energiemangels. Beim Vergleich von Versuchs- und Kontrollgruppe ist bei den Jungkühen am Tag 28 p.p. ein Trend für eine niedrigere Konzentration sowie bei den mehrkalbigen Kühen am Tag 98 p.p. eine signifikant niedrigere Konzentration an BHB in der Versuchsgruppe festzustellen. Bei den Kühen deckt sich diese Beobachtung mit den gemessenen Unterschieden der Rückenfettdicke.

Die Serumkonzentration der **NEFA** liegt in beiden Gruppen zu Laktationsbeginn deutlich über dem Referenzwert nach Füll (2005), was auf eine verstärkt einsetzende Fettmobilisierung hindeutet, die durch die beginnende Milchproduktion sowie durch die peripartal verminderte Futteraufnahme zu erklären ist (Goff und Horst, 1997; Herdt, 2000). Am Tag 28 p.p. zeigt die Versuchsgruppe der Kühe signifikant niedrigere NEFA-Konzentrationen, wobei der Mittelwert noch über dem Referenzbereich liegt und der Unterschied in der Abnahme der RFD zu diesem Zeitpunkt nur gering ist. In der Studie von DeFrain *et al.* (2005) wurden ante partum, jedoch nicht post partum, signifikant höhere Konzentrationen von NEFA und BHB in der supplementierten Versuchsgruppe gefunden. Nach der Geburt zeigten die Tiere der Versuchsgruppe dabei einen rascheren Abfall der NEFA Konzentrationen im Vergleich zur Kontrollgruppe, obgleich dabei keine statistische Signifikanz bestand (DeFrain *et al.*, 2005).

Die **Bilirubin**-Konzentration bei den Kühen ist in der Versuchsgruppe am Tag 28 ebenfalls signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe, was auch auf eine leichte positive Verbesserung der Energiebalance in der Versuchsgruppe hindeutet. Die geringere Konzentration von Bilirubin am Tag 8 a.p. in der Kontrollgruppe kann nicht hinreichend erklärt werden.

Nach Füll (2005) ist **Cholesterol** als indirekter Indikator der Futteraufnahme zu bewerten. Dies ist am Verlauf der Serumkonzentrationen zu erkennen. Am Tag 3 p.p. sind im Zuge der verminderten Trockenmasseaufnahme durch die Tiere die niedrigsten Werte zu finden, während im weiteren Laktationsverlauf Konzentrationszunahmen zu verzeichnen sind. Ein Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe ist dabei nicht zu festzustellen.

5.3.2 Eiweißstoffwechsel

Die **Harnstoff**-Konzentrationen an den verschiedenen Zeitpunkten liegen bei Jungkühen und Kühen beider Gruppen im Referenzbereich, ohne sich wesentlich zu unterscheiden. Der Anstieg der Konzentrationen im Laktationsverlauf kann mit einem verstärktem Proteinkatabolismus infolge des Energiemangelzustandes erklärt werden (Füll, 2004; Scholz, 1990). Es wäre auch möglich, dass der Harnstoff-Anstieg mit der Erhöhung der Futteraufnahme und damit einer gesteigerten Proteinversorgung in Verbindung steht.

5.3.3 Leberfunktionsparameter

Eine Aktivitätserhöhung der **AST** resultiert aus Skelett-, Herzmuskel- oder Leberschädigungen (Fürl, 1997; Gründer, 1991). Trotz der hohen Mobilisierung von Körperfett in beiden Gruppen ist keine schwerwiegende Aktivitätserhöhung der AST zu verzeichnen. Somit sind keine Hinweise auf akute oder chronische Störungen der Leberfunktion gegeben. Signifikant niedrigere Konzentrationen sind bei den Jungkühen der Versuchsgruppe am Tag 56 und 98 p.p. zu finden.

5.3.4 Zusammenfassung und Beurteilung der Blutparameter-Analyse

Insgesamt sind die Unterschiede zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe gering und nicht einheitlich. Im Energie- und Fettstoffwechsel sind leichte Hinweise auf eine positive Beeinflussung durch die Enzymsupplementatation zu finden, was die Ergebnisse der RFD-Messungen unterstützt. Das dort beobachtete Bestandsproblem der starken und lang andauernden Mobilisierung von Körperfett ist auch an den Blutparametern zu erkennen.

5.4 Fruchtbarkeitsparameter

5.4.1 Nachgeburtshaltung (NGV)

Besteht 24 Stunden nach der Geburt noch eine Verbindung zwischen Nachgeburt und Uterus, so spricht man von einer teilweisen oder vollständigen Nachgeburtshaltung (Retentio secundarium partialis bzw. totalis) (Sheldon, 2004). Grunert (1983) und Bostedt (2003) sehen ein Zurückbleiben der Nachgeburt ab 12 Stunden p.p. als pathologisch an. Die durchschnittliche Erkrankungsinzidenz liegt zwischen 6-8 % (Sheldon, 2004), wobei Hoedemaker *et al.* (2007) eine Inzidenz ≤ 15 % als tolerabel ansehen. Nach Grunert (1996) sind die Ursachen für das Zustandekommen einer NGV vielfältig: bakterielle Infektionen, hormonelle Störungen, Haltungsmängel, nicht wiederkäuergerechte Fütterung, toxische und allergische Einflüsse, Traumata, Uterusatonie und unphysiologische Trächtigkeitdauer. Etwa 90 % der Kühe entwickeln nach einer Retentio secundarium eine leichte Endometritis, die bei Übersteigerung der Gebärmutter selbstreinigungskraft und einer fehlenden Elimination der Erreger in eine akute oder auch chronische Endometritis übergeht (Laven und Peters, 1996; Lewis, 1997; Sobiraj, 2001). Die NGV führt infolge von tierärztlichen Behandlungskosten, verringerten Milch- und Fruchtbarkeitsleistungen sowie erhöhten Abgangsraten zu erheblichen finanziellen Verlusten (Laven und Peters, 1996; Sobiraj, 2001). Bezüglich der Inzidenz von NGV ist zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied zu finden. Dies ist in Bezug auf die Enzymsupplementatation auch nicht erwartet worden, da auch die Kontrolltiere 21 Tage a.p. sowie in den ersten 3 Tagen

p.p. eine Supplementation erhielten. Insgesamt ist die Inzidenz von NGV im Bestand mit etwa 20 % hoch.

5.4.2 Weitere Fruchtbarkeitsparameter

Bezüglich der Anzahl der künstlichen Besamungen (kBs) bis zur erneuten Trächtigkeit gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe. Dabei sind in beiden Gruppen Tiere zu finden, die mehrfach besamt wurden: Dem zu Folge sind in der Versuchsgruppe 62 Kühe ≥ 3 und noch 31 Tiere ≥ 4 mal besamt worden. In der Kontrollgruppe sind entsprechend 66 Tiere mit ≥ 3 und 32 mit ≥ 4 künstlichen Besamungen zu finden. Von den Tieren mit ≥ 4 Besamungen sind nach dem Versuchsende in der Versuchsgruppe immer noch 16 und in der Kontrollgruppe 12 als *nicht* tragend (TU-) diagnostiziert worden.

Bei genauerer Betrachtung der Fruchtbarkeitsleistungen der Versuchs- und Kontrollgruppe (Abschnitt 4.5.2) ist zu erkennen, dass der **Trächtigkeitsindex** (Anzahl Belegungen bei tragenden Tieren : Anzahl tragender Tiere) gruppenübergreifend über der anzustrebenden Zielgröße von $\leq 1,7$ nach Hoedemaker *et al.* (2007) liegt. Bei den Jungkühen erfolgt eine leichte Überschreitung dieses Wertes, bei den Kühen ist eine größere mittlere Abweichung vom angestrebten Herdenziel zu erkennen. Bei Jungkühen und Kühen der Versuchsgruppe ist der Trächtigkeitsindex etwas niedriger als in der Kontrollgruppe.

Die **Gesamträchtigkeitsrate** (Anzahl tragender Tiere : Anzahl besamter Tiere) sollte nach Hoedemaker *et al.* (2007) ≥ 90 % sein. Die Jungkühe der Versuchsgruppe liegen leicht über dieser Zielgröße, die Jungkühe der Kontrollgruppe leicht darunter. Bei den Kühen verhält es sich entgegengesetzt, hier liegen die Kühe der Kontrollgruppe leicht über einer Gesamträchtigkeitsrate von 90 %, die Kühe der Versuchsgruppe liegen mit 74,60 % deutlich darunter. Eine Begründung für diesen Sachverhalt kann an dieser Stelle nicht gegeben werden. Gruppenübergreifend ist somit eine Gesamträchtigkeitsrate von 83,10 % zu beobachten, was verdeutlicht, dass insgesamt das Herdenziel für diesen Parameter nicht erreicht wird.

Der **Erstbesamungserfolg** (Anzahl tragender Tiere nach Erstbesamung : Anzahl Erstbesamungen) ist bei den Kühen der beiden Gruppen sowie den Jungkühen der Kontrollgruppe als nicht zufrieden stellend zu bewerten. Insbesondere bei den Kühen liegen die Werte mit leicht über 30 % deutlich unter der Zielgröße nach Hoedemaker *et al.* (2007) mit 50 %. Die Jungkühe der Versuchsgruppe liegen in ihrem Erstbesamungserfolg in der Größenordnung des Herdenzieles. Mögliche Ursachen für den schlechten Erstbesamungserfolg sind vielfältig; systematische Fehler wie eine mangelhafte Brunstbeobachtung bzw. Brunsterkennung sowie unsachgemäße oder unqualifizierte Durchführung der künstlichen Besamungen können nach eigenen Beobachtungen ausgeschlossen werden. Wahrscheinlich als Ursache erscheint die stark ausgeprägte NEB,

die durch die Messungen der RFD und die Serumanalyse von NEFAs und BHB im Laktationsverlauf nachgewiesen wurde, was physiologisch als richtig angesehen werden muss: Eine Trächtigkeit unter den Bedingungen einer NEB ist sowohl für den Fetus als auch für das Muttertier vermutlich unerwünscht (Martens, 2007). Auch andere Autoren sehen einen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer NEB und verminderten Fruchtbarkeitsleistungen (Beam und Butler, 1999; Butler, 2003; Lopez-Gatiús *et al.*, 2003; Lucy, 2001; Pryce *et al.*, 2001; Westwood *et al.*, 2002).

Die **Zwischentragezeit** (Intervall Kalbung – 1. Trächtigkeitstag) ist bei Jungkühen der Versuchsgruppe im Mittel um 11 Tage, und bei den Kühen der Versuchsgruppe um 5 Tage kürzer als in der Kontrollgruppe. Insgesamt wird die Zielgröße von ≤ 105 Tagen (Hoedemaker *et al.*, 2007) aber deutlich überschritten. Auch die zweite Zielgröße zur Gützeit, nämlich dass 75 % der Tiere eine Gützeit ≤ 115 Tage haben sollten, wird nicht erreicht: Bei den Jungkühen liegen die Leistungen hierfür um die 50 % und bei den Kühen um die 40 %; wobei die Versuchsgruppe bei Jungkühen und Kühen jeweils einen um etwa 5 % höheren Anteil an Tieren mit einer ZTZ ≤ 115 Tage hat.

Insgesamt zeigt der Vergleich von Versuchs- und Kontrollgruppe bei den Fruchtbarkeitskennzahlen keine deutlichen Unterschiede. Einflüsse durch die Supplementation der Enzyme sind nicht zu erkennen.

Es bleibt zu erwähnen, dass die hier vorliegenden Fruchtbarkeitskennzahlen den Bestand nicht vollständig repräsentieren. In die Auswertung sind nur die Tiere eingegangen, die den gesamten Versuchszeitraum (21 Tage vor der Geburt, 150 Tage in der Laktation) absolviert haben. Entsprechende Daten von Tieren, die vorher den Betrieb verlassen haben und aus der Studie ausgeschieden sind, wurden somit *nicht* berücksichtigt. Die tatsächliche Leistung der gesamten Herde dürfte aller Wahrscheinlichkeit nach aber leicht unter den Leistungen der in der Studie berücksichtigten Tiere liegen.

Die Auswertung der Fruchtbarkeitskennzahlen deutet auf eine nicht zufrieden stellende Fruchtbarkeitsleistung insgesamt hin, die zu ökonomischen Verlusten führt und auch ein Grund für eine erhöhte Abgangsrate sein kann. So geben Hoedemaker *et al.* (2007) beispielsweise einen finanziellen Verlust in der Größenordnung von 1-4 € (je nach Betrieb) pro zusätzlich anfallendem Tag der Zwischenkalbezeit an. Vorzunehmende Maßnahmen zur Verbesserung der Fruchtbarkeitsleistungen der Herde sollten sich auf Strategien zur Verminderung der NEB konzentrieren.

5.5 Auswertung der Fütterung

Für die Berechnung des täglichen energetischen Erhaltungsbedarf bei Milchkühen geben Jeroch *et al.* (1999) folgende Formel an: $0,293 \times \text{kg Lebendmasse}^{0,75}$ (MJ NEL/Tag). Nach den Angaben der Autoren bedarf es einer zusätzlichen Leistung von 3,17 MJ NEL pro kg Milch bei Milchhaltsstoffen 4,0 % Fett und 3,5 % Eiweiß. Bei abweichenden Fett- bzw.

Proteingehalten der Milch ändert sich entsprechend der Leistungsbedarf, wobei diese Tatsache bei der folgenden Beurteilung berücksichtigt wurde. Betrachtet man die errechneten Rationen (**Tab. 2**) so besteht im 1. Laktationsmonat ein geringes Energiedefizit von etwa 7 MJ. Die Ration vom 2. bis 9. Laktationsmonat ist diesbezüglich energetisch ausgeglichen.

Die RNB sollte ausgeglichen sein (Werte zwischen 0-50 g). Dies ist in der Früh-, Hoch- und Spätlaktation der Fall. Die Trockensteher-Rationen weisen eine leicht negative RNB auf. Die beiden Rationen fallen durch einen hohen errechneten bzw. verfütterten Energiegehalt auf (errechnet: TS 1: 71,99; TS 2: 75,59 MJ NEL; bzw. TMR Analysenergebnisse: 6,9 und 7,1 MJ NEL/kg TM) auf, wobei auch die angenommene TM-Aufnahme mit etwa 12 kg recht hoch erscheint.

Der Bedarf an strukturierter Rohfaser (300-400 g/100 kg LM) ist gedeckt. Insgesamt kann man die Rationen als wiederkäuergerecht bewerten.

Mit den berechneten Rationen lassen sich die beobachteten Stoffwechselimbilanzen nicht erklären. Das Bestandsproblem der massiven und lang andauernden Mobilisierung von Körperfett nach dem Abkalben ist also entweder durch eine Diskrepanz der Inhaltsstoffe der TMR zur theoretischen Berechnung oder durch eine unzureichende TM-Aufnahme der laktierenden Kühe zu erklären. Die durchgeführten Analysen der TMR-Proben (**Tab. 3-5**) geben dabei keinen Hinweis auf eine energetische Unterversorgung, die Trockensteher sind energetisch überversorgt.

5.6 Mögliche Erklärungen für die beobachteten Effekte

Es liegen nur wenige Informationen zu den Charakteristika der eingesetzten Cellulase und Amylase vor. Bei der Cellulase handelt es sich um einen Zusatzstoff mit einer Reihe von Enzymaktivitäten, so dass die Angabe eines pH-Optimums nicht sinnvoll erscheint. Außerdem können keine Angaben über einen möglichen Effekt der Amylase im Dünndarm gemacht werden, so dass eine Wirkung auf die Bypass-Stärke der Ration nur vermutet werden kann. Der Anteil der Bypass-Stärke wiederum ist aus den zur Verfügung stehenden Daten der Rationsberechnung des Betriebes nicht zu ermitteln. Aussagen über mögliche Wirkungen der Cellulase im postruminalen Verdauungstrakt können ebenfalls nicht getroffen werden.

In der vorliegenden Untersuchung wurden keine Messungen der Verdaulichkeit vorgenommen. Die wenigen positiven Effekte scheinen jedoch auf einer Zunahme der Verdaulichkeit zu beruhen. In einigen Studien ist eine Zunahme der Verdaulichkeit durch den Einsatz von NSP-hydrolysierenden Enzymen nachgewiesen worden, die sich z.B. in einer vermehrten Produktion flüchtiger Fettsäuren und einer verstärkten Gasproduktion *in vitro*, (Clark *et al.*, 1961; Iwassa, 1997; Kung *et al.*, 2002; Wallace *et al.*, 2001), oder in einer verringerten Ausscheidung von Nährstoffen mit dem Kot *in vivo* (Giraldo *et al.*, 2007;

Knowlton *et al.*, 2007) zeigte. Insgesamt scheinen die Enzymwirkungen im Pansen (Förderung der Kolonisierung der Futtersubstrate und der mikrobiellen Population sowie synergistische Effekte mit den endogenen Enzymen) für die in der Literatur beschriebenen Effekte verantwortlich zu sein. Diese ruminalen Wirkungen sind in einer Reihe von Studien beobachtet worden (Colombatto *et al.*, 2003c; Hristov *et al.*, 1998b; Morgavi *et al.*, 2000a; Morgavi *et al.*, 2004; Newbold, 1997; Wang *et al.*, 2001a; Wang *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 1999). Dabei wiesen einige Autoren nach, dass exogene Enzyme eine angemessene Zeit im Pansen überstehen können, um Effekte durch eine Supplementation zu erzielen (Hristov *et al.*, 1998b; Morgavi *et al.*, 2000a; Morgavi *et al.*, 2001). Nach Beauchemin und Rode (1996) kann dabei der Anteil exogener Enzyme an der hydrolytischen Gesamtkapazität des Pansens bis zu 15% betragen.

Eine deutliche Veränderung der Futterbestandteile vor der Fütterung kann wahrscheinlich ausgeschlossen werden, da die Applikation der beiden Enzyme unmittelbar vor der Fütterung (auf dem Weg der TMR mit dem Hochband zu den Produktionsgruppen) erfolgte. Somit war die Zeitspanne von der Applikation bis zur Futteraufnahme stets kurz (ca. eine Stunde), zumal die Fütterung regelmäßig acht bis zehnmal täglich in kleineren Mengen erfolgte, und so die vorgelegte Futtermenge zügig aufgenommen wurde.

Die vorhandenen Daten zur Menge des vorgelegten Futters können nicht zur Beurteilung der Futteraufnahme herangezogen werden, da der Versuch unter Praxisbedingungen durchgeführt wurde und so beispielsweise eine kontrollierte Einzeltierfütterung nicht möglich war. Des Weiteren waren aus betrieblichen Gründen sowohl in der Versuchs- als auch in der Kontrollgruppe stets Tiere untergebracht, die nicht an der Studie teilnahmen. Die Daten zur Menge des vorgelegten Futters sind daher als grober Anhaltspunkt zu sehen. Demnach kann nicht abschließend geklärt werden, ob die Enzymsupplementation eine Zu- oder auch Abnahme der Futteraufnahme hervorgerufen hat. Einige Studien zum Einsatz von exogenen Enzymen bei laktierenden Kühen stellten eine Zunahme der Futteraufnahme fest (Beauchemin *et al.*, 2000), andere Untersuchungen hingegen beobachteten keine Änderungen in der Futteraufnahme (Beauchemin *et al.*, 1999b; Bowman *et al.*, 2002; Knowlton *et al.*, 2002; Rode *et al.*, 1999; Titi, 2003; Yang *et al.*, 1999). DeFrain *et al.* (2005) stellten bei der Supplementation einer α -Amylase vor der Geburt eine stärker ausgeprägte Abnahme der Futteraufnahme im Vergleich zur Kontrolle fest. Nach der Abkalbung war dieser Unterschied nicht mehr zu beobachten.

Aufgrund der Untersuchungen von Hristov *et al.* (1998a) scheint es möglich, dass die die Xylanase- und Amylase-Aktivitäten auch postruminal Effekte hervorgerufen haben können. Die Autoren beobachteten bei *in vitro* Versuchen, dass Xylanase und Amylase widerstandsfähig gegenüber einer Pepsinverdauung waren. Andere *in vitro* Versuche berichteten davon, dass saure pH-Werte und Pepsin nur einen geringen Einfluss auf die verwendeten Enzymaktivitäten hatten (β -Glucanase/Cellulase/Xylanase) (Almirall und Estevegarcia, 1995; Morgavi *et al.*, 2001).

Aufgrund der ausgewählten Versuchsparameter und fehlender Informationen zu den Charakteristika der eingesetzten Enzyme lassen sich die beobachteten Effekte nicht mit Sicherheit einem Wirkungsort zuordnen. Außerdem ist es nicht möglich, die Effekte einem der beiden supplementierten Enzyme (Cellulase/Amylase) zuzuordnen bzw. festzustellen, ob die Gabe nur jeweils eines Enzymproduktes die gleichen Effekte hervorgerufen hätte.

5.7 Inzidenz ausgewählter Krankheitskomplexe

Das Auftreten von drei bedeutsamen Krankheitskomplexen in der Versuchs- und Kontrollgruppe wurde im Versuchszeitraum registriert.

5.7.1 Gebärparese (Milchfieber)

Die Inzidenz der Gebärparese betrug in der Kontrollgruppe 10,2 % und in der Versuchsgruppe 7,8 %. Nach de Kruif *et al.* (2007) ist eine Inzidenz von 2-3 % normal bei einem oberen Grenzwert von 6 %. Fürll (2002) gibt eine Inzidenz von 2-5 % an. Somit ist von einer leichten Erhöhung der Krankheitsinzidenz im Bestand zu sprechen. Der Unterschied zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe ist als zufällig zu bewerten und steht in keinem Zusammenhang zur Supplementation der Enzympräparate, da beide Gruppen im entsprechenden Zeitraum um die Geburt eine Enzymzulage zur Ration erhielten.

Die Gebärparese stellt eine akut verlaufende Störung des Mineralstoffwechsels dar, die bei zu niedriger Calciumkonzentration im Blut ab einem gewissen Grad zur zunehmenden Lähmung der quergestreiften und auch glatten Muskulatur führt. Die Gebärparese ist eine peripartale Erkrankung und kommt im Zeitraum 1 Tag vor bis zu 3 Tagen nach der Kalbung vor (Staufenbiel, 2002). Nach Fürll (2002) sind folgende prädisponierende Faktoren für eine Erkrankung zu nennen: eine sehr hohe Ca (> 80 g/d) und/oder P (>50 g/d) Versorgung in der Trockensteherphase, ein Alkaliüberschuss im Futter der Trockensteher (>100 mEq/kg TS), eine Überkonditionierung der Tiere (BCS > 4; RFD > 30 mm), eine hohe Milcheinsatz- und Milchfettleistung, zunehmendes Alter (> 3. Laktation) sowie vorangegangene Erkrankung(-en) an Gebärparese. Bei den prophylaktischen Maßnahmen zur Verhinderung des Auftretens der Erkrankung kommt der calciumrestriktiven Fütterung in der Trockensteherphase eine besondere Bedeutung zu (Ricken, 2005; Rossow und Horvarth, 1988). Weiterhin besteht durch den Einsatz von „sauren Salzen“ die Möglichkeit zur Induzierung einer subklinisch kompensierten Acidose mit den Folgen einer Stabilisierung der Calciumhomöostase mit Freisetzung von Calcium aus den Knochen, wodurch das Risiko des Festliegens signifikant reduziert wird (Staufenbiel, 2005).

5.7.2 Labmagenverlagerung (Dislocatio abomasi, LMV)

In der Versuchsgruppe betrug die Inzidenz der Labmagenverlagerung 0,5 %; es trat im Versuchszeitraum nur 1 Erkrankungsfall auf. In der Kontrollgruppe betrug das Vorkommen 3,4 %; hier wurde die Diagnose einer LMV insgesamt 7 Mal gestellt. Dieser Unterschied zwischen den Gruppen ist beträchtlich, jedoch aus dem aktuellen Wissenstand zur Ätiologie der Labmagenverlagerung nicht zu erklären. In wie weit die Supplementation exogener Enzyme einen Einfluss auf die Krankheitsinzidenz gehabt hat, kann aus den zur Verfügung stehenden Daten nicht geklärt werden.

Bei der Dislocatio abomasi handelt es sich um eine multifaktorielle Erkrankung (Martens, 1998). Dirksen (1961) nennt als Hauptfaktoren für die Entstehung einer LMV eine gestörte Labmagenmotorik sowie Gasansammlung im Labmagen. Durch eine verminderte Motilität kommt es zu einer Herabsetzung der Labmagenentleerung und damit einhergehend zur Ansammlung von Ingesta und Gas im Labmagen. Die LMV im geburtsnahen Zeitraum steht in enger Beziehung zur NEB und wird als Teil des Fettmobilisationssyndroms betrachtet (Fürll, 1997). Hauptsächlich von der Erkrankung betroffen sind dabei Hochleistungskühe (Geishauser, 1995). Fürll (1997) gibt die durchschnittliche Inzidenz der LMV in deutschen Milchviehbeständen zwischen 2-8 % mit jahreszeitlicher Häufung im Frühjahr an. Die Erkrankung tritt hauptsächlich bis 4 Wochen nach dem Kalben auf (Freital, 2003). Staufenbiel (1998) bezeichnet den peripartalen Zeitraum als prädestiniert für die Auslösung einer LMV, da sich in keinem anderen Abschnitt des Laktationszyklus die Futteraufnahme in so kurzer Zeit derart schnell vermindert. So fällt die mittlere Trockensubstanzaufnahme 2 bis 1 Woche vor dem Abkalben von etwa 12 kg auf 9 kg zum Kalbezeitpunkt ab (Staufenbiel, 1998). Bei allen registrierten Krankheitsfällen in der vorliegenden Studie handelte es sich um eine linksseitige Labmagenverlagerung.

5.7.3 Euterentzündung (Mastitis)

Das Auftreten von Euterentzündungen mit einer Inzidenz um 30 % bei den Kühen verdeutlicht die wirtschaftliche Relevanz dieses Krankheitskomplexes. Nach Hoedemaker *et al.* (2007) betragen die Kosten für die Behandlung durchschnittlich 75 € (bis 150 €) pro Kuh und Jahr. Die in den Milchleistungsprüfungen durchgeführten Messungen der Zellgehalte eignen sich nur bedingt zur Beurteilung des Eutergesundheitsstatus. Im Mittel wurde dabei der offizielle Grenzwert von 400.000 Zellen/ml durchweg unterschritten, wobei einzelne Tiere diesen Wert deutlich überschritten. In Abschnitt **4.6.3** sind Tiere erfasst worden, bei denen eine klinisch manifeste Mastitis diagnostiziert und eine Therapie eingeleitet wurde. Dabei sind zwischen der Versuchs- und der Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Auftretens von Euterentzündungen festzustellen gewesen.

Als Mastitis wird die Entzündung der Milchdrüse bezeichnet, die mit einer Störung der Milchbildung, -speicherung und Funktionstüchtigkeit ableitender Abschnitte einhergeht.

Hauptsächlich bakterielle Erreger sind am Erkrankungsgeschehen beteiligt, aber auch Pilze (Hefen) und Algen (Prototheken) spielen eine Rolle. Die häufigsten bakteriellen Erreger sind *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* und *Streptococcus dysgalactiae* (Merle, 2003). Die Erreger gelangen vor allem über den Strichkanal in die Milchdrüse; aber auch die Verbreitung auf hämatogenem und lymphogenem Weg ist zu erwähnen. Kritische Zeitpunkte für die Entstehung einer Euterentzündung sind insbesondere die frühe Trockensteherperiode sowie der peripartale Zeitraum (Burton und Erskine, 2003). Nach Sobiraj (2005) kann die Erkrankung in eine klinische Form mit und ohne Allgemeinstörung sowie in eine klinisch inapparente Form eingeteilt werden. Es wird angenommen, dass der wirtschaftliche Schaden durch die Reduktion der Milchmenge und die veränderte Milchezusammensetzung pro Jahr etwa 1 Mrd. € beträgt (Sobiraj, 2005). Daneben sieht der Autor die Euterentzündung neben Unfruchtbarkeit als eine Hauptabgangsursache in Milchviehbeständen. Die Erkrankung ist multifaktoriell bedingt: Stress, Haltungs- und Fütterungsfehler, mangelhafte Melkhygiene und Melktechnik sowie starker Keimdruck sind unter anderem zu nennen (Hamann, 2002). Janosi *et al.* (2003) sehen einen deutlichen Zusammenhang zwischen Imbalancen im Energiestoffwechsel (BHB-Konzentrationen > 1 mmol/l) von Kühen und dem Erkrankungsrisiko einer bakteriell bedingten Euterentzündung durch eine Beeinträchtigung der Immunabwehr. Analog dazu beschreiben Fürll *et al.* (2002) einen Einfluss der Stoffwechsellage a.p. auf die Eutergesundheit; die Autoren sehen in der Vermeidung des Fettmobilisationssyndroms eine gute Mastitis-Prophylaxe. Rezamand *et al.* (2007) stellten in ihrer Untersuchung fest, dass Tiere mit einem hohen BCS und größerer Mobilisierung von Körperfett in den ersten 8 Wochen p.p. anfälliger für eine Mastitis-Erkrankung waren als Kühe mit signifikant kleinerem BCS und weniger Mobilisierung von Fett. Diese Beobachtung legt einen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von ausgeprägten Energiereserven und einer Beeinträchtigung des Immunsystems nah (Rezamand *et al.*, 2007). Nach Sobiraj (2005) sind therapierestistente subklinisch erkrankte Tiere sowie Kühe mit chronisch rezidivierenden Mastitisformen zu merken. Burton und Erskine (2003) sehen regelmäßige Mastitiskontrollen, strenge Melkhygiene, die Verwendung von bewährten Mastitis-Impfstoffen sowie die Umfeld-Optimierung als beste Möglichkeiten zur Senkung des Erkrankungsrisikos. Außerdem sehen die Autoren die Möglichkeit, durch zukünftig mögliche genetische Veränderungen den Immunstatus von Milchkühen gegenüber Mastitis-Erkrankungen zu verbessern. So beschreiben Burton und Erskine (2003), dass bereits genetisch veränderte Mäuse gezüchtet wurden, deren Milchdrüsen eine große Menge an antimikrobiellen Proteinen synthetisieren. Als Folge davon seien die Mäuse resistent gegenüber Mastitis-Erkrankungen, hervorgerufen durch *Staphylococcus aureus*.

5.8 Weitere Untersuchungen zum Verlauf der Körperkondition

Die Ergebnisse aus den zusätzlichen Untersuchungen zur Entwicklung der Körperkondition im Laktationsverlauf zeigen deutlich, dass Tiere mit großer Bereitschaft, Körperfett zu mobilisieren, höhere Milchleistungen haben als Tiere mit geringerer Fettmobilisierung. Es ist also ein Zusammenhang zwischen hoher Fettmobilisierung und hohen Milchleistungen anzunehmen, wobei dies auch eine negative Auswirkung auf die Reproduktionsparameter hat. In der vorliegenden Untersuchung ist die Zwischentragezeit im Mittel bei den hochmobilisierenden Tieren (HM) um 16 Tage länger. Bei getrennter Betrachtung nach der Laktationsnummer zeigen sich mittlere Unterschiede von 4 Tagen bei den Jungkühen und 25 Tagen bei den Kühen.

Ähnliche Beobachtungen machten auch López-Gatius *et al.* (2003), die eine Verlängerung der Gützeiten bei einer Abnahme der Körperkondition > 1 BCS feststellten. Die negative Wechselwirkung zwischen der Zunahme der Laktationsleistung und Fruchtbarkeitsparametern ist seit vielen Jahren gut dokumentiert, wie z.B. in den Arbeiten von Butler (Beam und Butler, 1999; Butler, 2003). Hier sind die Erhöhung der Milchleistung und die Abnahme des Erstbesamungserfolges im Zeitraum 1951-2001 im Staat New York dokumentiert: So wurde die durchschnittliche Milchleistung in 50 Jahren von ca. 5000 l auf etwas mehr als 10.000 l gesteigert. Im gleichen Zeitraum sank der Erstbesamungserfolg von ca. 65 % auf 30 % ab. Es liegt mittlerweile eine Reihe von Untersuchungen zu den Auswirkungen einer NEB auf die Reproduktionsorgane vor. Lucy *et al.* (1992) beispielsweise weisen darauf hin, dass zwischen einem Anöstrus durch ovarielle Inaktivität und einem Anöstrus bei aktivem Ovar jedoch ohne Ovulation unterschieden werden muss. Eine ovarielle Inaktivität kann nach Lucy *et al.* (1991) durch eine unzureichende LH-Sekretion hervorgerufen werden, die in der frühen postpartalen Periode mit einer nicht angemessenen Energieaufnahme verbunden ist. In der gleichen Untersuchung beobachteten die Autoren, dass die Amplituden der LH-Pulse sowie die Durchmesser der dominanten Follikel zunahmten bei einer vermehrt positiven oder weniger negativen Energiebalance. Ein so bedingter Anöstrus kann bei Kühen mit einer verlängerten NEB-Periode Grund für ein Zeitintervall von > 200 Tagen bis zur 1. Ovulation sein (Lucy *et al.*, 1992). In den Untersuchungen von Royal *et al.* (2000) wurden Abweichungen im Zyklusverlauf beschrieben. Diese waren durch untypische Konzentrationsverläufe ovarieller Hormone, durch eine verzögerte Luteolyse und eine verzögerte Ovulation charakterisiert. Es ist wahrscheinlich, dass diese Zyklusstörungen mit Parametern einer energetischen Unterversorgung korrelieren. Pushpakumara *et al.* (2003) beobachteten in ihren Studien, dass Kühe mit verringerten Progesteronkonzentrationen p.p. signifikant niedrigere IGF-1 Konzentrationen und BCS aufwiesen. Die Fruchtbarkeit der Kühe verringerte sich nach dem Abkalben in diesen Untersuchungen mit der Abnahme des metabolischen Status (IGF-1; BCS). Taylor *et al.* (2004) untersuchten daher eine mögliche Beziehung zwischen der Fruchtbarkeit und IGF-1 und fanden heraus, dass niedrigere IGF-1 Konzentrationen mit einer

verminderten Konzeptionsrate bei Kühen assoziiert sind. Die Autoren beschrieben ebenfalls, dass Kühe mit höherer Milchleistung niedrigere IGF-1 Konzentrationen im Blut aufwiesen und später mit dem Zyklus einsetzten. Diese Studienergebnisse zeigen die große Bedeutung des Stoffwechselstatus der Kühe für die Fruchtbarkeitsleistungen, und es wird deutlich, dass eine Unterversorgung mit Energie mit einer verringerten Konzeptionsrate korreliert.

Wade und Jones (2004) untersuchten die Fragestellung, ob eine energetische Unterversorgung in dem heutigen üblichen Ausmaß und der Dauer auch zu Beeinträchtigungen physiologischer Leistungen, wie z.B. der Zyklusregulation, führen kann. Eine wichtige Feststellung der Autoren ist, dass die für den Stoffwechsel zur Verfügung stehende Energie entsprechend einer Hierarchie der physiologischen Bedeutung eingesetzt wird. Demnach werden *essentielle* (Zell-Versorgung, Kreislauf, Nervenaktivität), *reduzierbare* (Bewegung, Thermoregulation, Wachstum) und *entbehrliche* (**Reproduktion**, Fett-Speicherung) Prozesse unterschieden. Die Reproduktion gehört bei einer energetischen Unterversorgung also zu den *entbehrlichen* Funktionen, d.h., das Ausbleiben des Zyklus unmittelbar nach dem Abkalben in der Periode großer energetischer Unterversorgung ist als eine physiologische Reaktion anzusehen. Diese Einteilung erklärt nicht den Mechanismus, *wie* es nun zu einer Einschränkung des Reproduktionsgeschehens bei einer Unterversorgung mit Energie kommt. Besteht eine energetische Unterversorgung, so verursacht dies im Hypothalamus eine verminderte Freisetzung von GnRH. Dies führt zu einer Beeinträchtigung der Zyklusregulation, und in der Hypophyse führt dies zu einer verringerten Freisetzung von FSH und LH. Die Folge ist im Ovar eine gestörte Follikelreifung bzw. eine ausbleibende Ovulation. Eine Erklärung, wie es zur Reduktion der GnRH-Freisetzung kommt, geben überzeugende Befunde, die belegen, dass im Hirnstamm ein „fuel detector“ vorhanden ist, der auf bisher nicht genau bekannte Art die Oxidation von (wahrscheinlich) Glucose detektieren kann. Ist ausreichend Glucose für die Oxidation vorhanden, so wird das Signal neuronal in den Hypothalamus weitergeleitet und dann an die Freisetzung der Hormone gekoppelt. Diese Reaktionskaskade wird in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt.

Energetische Unterversorgung verursacht:

- Abnahme der Oxidation (Glucose) ↓:
Postulierter „fuel detektor“ in der A. postrema (AP im Hirnstamm)
- Neuronale Signalverarbeitung: Aktionspotential → Hypothal. ↓
- Transmitter: Neuropeptid Y und Katecholamine
- Signalübertragung im Hypothalamus direkt auf
 - GnRH Neurone (↓) und/oder indirekt
 - über CRH Neurone auf GnRH Neurone (↓)
 - LH Ausschüttung (↓)
 - im Ovar: Gestörte Follikelreifung
Gestörte/ausbleibende Ovulation
- Paarungsverhalten: Verringerung, Ausbleiben

Abbildung 51 Schematische Darstellung der Signalvermittlung bei reduzierter Oxidation (wahrscheinlich Glucose) im „fuel detektor“ im Hirnstamm (Area postrema – AP -ventral des 4. Ventrikels; modifiziert nach Wade und Jones, 2004)

Ergänzend muss erwähnt werden, dass unabhängig von der oben beschriebenen Kaskade die IGF-1 Konzentrationen im Plasma bei energetischer Unterversorgung absinken und auch über diesen Weg die Follikelfunktion negativ beeinflusst wird.

In der vorliegenden Untersuchung wurden durch die Anordnung der Tiere gemäß ihren Mobilisierungsraten die LM-(Low Mobilization) und HM-(High-Mobilization) Gruppen gebildet. Diese beiden Gruppen unterscheiden sich signifikant in ihren Milchleistungen über die ersten 98 Tage der Laktation, jedoch zeigen sich auch signifikante Unterschiede in der Körperkondition am Tag 28, 56 und 98 p.p., wobei die beiden Gruppen zum Zeitpunkt der Geburt als gleich konditioniert anzusehen sind. Außerdem zeigt die LM-Gruppe signifikant niedrigere NEFA-Konzentrationen im Serum an den Tagen 3, 28 und 56 post partum. In der vorliegenden Untersuchung gehen also eine hohe Mobilisierungsrate (bei hoher Milchleistung) mit einer Abnahme der Fruchtbarkeit und einer Zunahme der Konzentration an freien Fettsäuren im Blut einher. Dabei sind hohe NEFA- Konzentrationen kritisch zu bewerten: Eine Fettleber bei Milchkühen entsteht durch die schnelle Lipolyse als Folge einer NEB (Geelen und Wensing, 2006). NEFA werden aus den Adipozyten freigesetzt, und die Aufnahme von NEFA durch die Leberzellen ist größer als der Umsatz, so dass sich ein Anstieg des Leberfettgehaltes ergibt. Das Krankheitsbild der Fettleber wird als eine Ursache für eine Reihe von Gesundheitsstörungen wie verminderter Fruchtbarkeit, Ketose oder einer herabgesetzten Immunabwehr diskutiert (Geelen und Wensing, 2006; Grummer, 1993). Mit zunehmendem Ausmaß der NEB können entsprechend die Zunahme der NEFA-Konzentration sowie die Häufung gesundheitlicher Risiken erwartet werden. So wird seit einigen Jahren das Auftreten von Insulinresistenz in der Frühlaktation beschrieben (Hayirli, 2006). Des weiteren wurden Korrelationen zwischen NEFA- Konzentrationen und dem Auftreten von Labmagenverlagerungen (Cameron *et al.*, 1998; Geishauser *et al.*, 2000; Pravettoni *et al.*, 2004) sowie verminderter Fruchtbarkeit (Canfield und Butler, 1990; Grummer, 1995) beschrieben. Ohtsuka *et al.* (2001) berichten außerdem von einer

Konzentrationszunahme pro-inflammatorischer Cytokine wie TNF- α . Dabei diskutieren aktuelle Studien einen Zusammenhang zwischen NEFA, TNF- α und dem Auftreten von Insulinresistenz, wie es Martens (2007) in seinem Review umfassend darlegt. Es stellt sich also grundsätzlich die Frage, ob es sinnvoll ist, die höheren Milchmengen, die mit Hilfe der Mobilisierung großer Körperfettreserven möglich sind, züchterisch anzustreben, wenn dabei Probleme wie eine hier nachgewiesene schlechtere Fruchtbarkeit und hohe Konzentrationen an freien Fettsäuren im Blut (mit den oben erwähnten möglichen Folgen) in Kauf genommen werden müssen. Hinweise darauf, dass das Fettmobilisierungsvermögen auch einen genetischen Hintergrund hat, geben Friggens *et al.* (2007). Die Autoren untersuchten die Energiebalance von Kühen während der Laktation mit drei verschiedenen Rassen: Danish Holstein, Danish Red und Jersey. Die Fütterung war jeweils identisch. Die Danish Holstein zeigten zu Laktationsbeginn eine signifikant größere Mobilisierung von Körperfett als die beiden anderen Rassen. Die Beobachtung, dass dabei Jungkühe niedrigere Mobilisierungsraten zeigten als Kühe, kann in der hier vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Im weiteren Laktationsverlauf wurden im Versuch von Friggens *et al.* (2007) die Unterschiede zwischen den Rassen sowie zwischen Jungkühen und mehrkalbigen Kühen geringer. Aufgrund einer genetisch fixierten Komponente besteht offensichtlich die Möglichkeit, durch entsprechende Selektion von Tieren Einfluss auf die Fettmobilisierungsraten zu nehmen, was einen Ansatzpunkt zur Begrenzung der NEB darstellen könnte. Es bleibt zu beachten, dass ein optimales Handlungs- und Fütterungsmanagement eine ebenso große Rolle für die Tiergesundheit spielen. Eine weitere Beobachtung, die durch die zusätzlichen Untersuchungen zum Körperkonditionsverlauf gemacht wurde ist, dass es in der LM- Gruppe eine Untergruppe von Tieren gibt, die trotz einer geringen Mobilisierungsrate (sehr) hohe Milchleistungen zeigten. Da diese Leistung offensichtlich nicht durch eine exzessive Lipolyse erbracht wurde, liegt die Annahme nahe, dass die Tiere eine größere Futtermittelaufnahme und/oder bessere Futterverwertung haben müssen. Diese Beobachtungen lassen den Schluss zu, dass eine züchterische Selektion auf Tiere mit geringeren Mobilisierungsraten bereits praktisch möglich ist, d.h., entsprechende Individuen (und damit „genetisches Material“) vorhanden sind. In weiter führenden Untersuchungen sollten Anstrengungen unternommen werden, einen geeigneten Marker zur züchterischen Selektion zu finden. Das Vorhaben könnte helfen, den Gesundheitsstatus der Hochleistungsmilchkühe zu verbessern und ihre Nutzungsdauer zu verlängern. Dies ist auch im ökonomischen Interesse, da die Nutzungsdauer aktuell in Deutschland lediglich etwa 2,5 Laktationen beträgt (ADR, 2005). Dieses Ziel sollte jedoch auch eine ethische Verpflichtung für Tierärzte und Tierzüchter werden.

5.9 Schlussfolgerungen zum Einsatz von exogenen Enzymen bei Hochleistungs-Milchkühen

In der durchgeführten Studie wurden der Versuchsgruppe eine Cellulase sowie eine α -Amylase über die TMR verabreicht. Im Vergleich zur Kontrollgruppe konnte eine leichte positive Beeinflussung des Stoffwechsels im Hinblick auf die Fettmobilisierungsrate (mittels ultrasonographischer Messungen der RFD) festgestellt werden. Hinweise auf positive Effekte einer Enzymsupplementation zeigten sich tendenziell auch bei den Blutparametern (BHB, NEFA). Bezüglich der Zusammensetzung der Milchinhaltsstoffe wurden keine großen Unterschiede gefunden, bis auf einen signifikant niedrigeren Proteingehalt in der supplementierten Versuchsgruppe zu den Zeitpunkten MLP 3-5. Die Milchleistung zu Beginn der Laktation (Tage 1-30) war in der Versuchsgruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe, wobei zwischen den akkumulierten Milchmengen über 150 Tage kein signifikanter Unterschied festzustellen war. Einschränkend muss erwähnt werden, dass der Befund der höheren Milchleistung in der Früh-laktation aufgrund des Versuchsansatzes kritisch zu beurteilen ist, da in der Kontrollgruppe die Enzymsupplementation ab dem 3. Tag p.p. nicht fortgesetzt wurde und somit eine Anpassung an die veränderte Ration erfolgen musste. Außerdem kann ein Gruppierungseffekt durch die Tierzuteilung zu den Gruppen nicht ausgeschlossen werden. Insgesamt sind die Auswirkungen der Enzymsupplementierung in der vorliegenden Untersuchung als nicht deutlich erkennbar zu bewerten. Weitere Untersuchungen zum Einsatz exogener Enzyme bei Milchkühen zur Weiterentwicklung entsprechender kommerzieller Produkte erscheinen aber dennoch sinnvoll, da eine leichte positive Beeinflussung der Stoffwechsellage (RFD; BHB, NEFA) beobachtet wurde.

6 Zusammenfassung

Einfluss einer Supplementation von Nicht-Stärke-Polysaccharid (NSP)-hydrolysierenden Enzymen und einer α -Amylase auf einige Leistungsparameter bei Milchkühen

Seit vielen Jahren ist der Einsatz von Futterenzymen bei monogastrischen landwirtschaftlichen Nutztieren wie Mastschweinen und Mastgeflügel üblich, um z.B. die antinutritiven Effekte der NSP zu verringern und eine bessere Ausnutzung des Tierfutters zu ermöglichen. In der vorliegenden Studie wurden die Auswirkungen der Supplementation einer Cellulase und einer α -Amylase auf einige Leistungsparameter bei Milchkühen untersucht. Der Versuch wurde unter Praxisbedingungen auf einer Milchviehanlage durchgeführt, wobei insgesamt 416 Tiere aufgeteilt in zwei Gruppen (209 Versuchs- und 207 Kontrolltiere) teilnahmen. Die Supplementation der Enzyme begann in beiden Gruppen 21 Tage a.p. und wurde nach der Abkalbung in der Versuchsgruppe über den gesamten Zeitraum der Studie von 150 Tagen fortgeführt. Die zwei Enzyme wurden separat unmittelbar vor der computer-gestützten Hochbandfütterung auf die Totale Mischration (TMR) aufgesprüht.

Als Versuchsparameter wurden die Milchleistung und Milchinhaltsstoffe, die Körperkondition (Rückenfettdicke (RFD)- Messungen 56, 28 Tage a.p. sowie 3, 28, 56, 98, 140 Tage p.p.), die Serumkonzentrationen von Bilirubin, Cholesteroll, Harnstoff, Aspartat-Amino Transferase, Non Esterified Fatty Acids (NEFA) und β -OH-Butyrat (8 Tage a.p. sowie 3, 28, 56, 98, 140 Tage p.p.), die Fruchtbarkeitskennzahlen sowie das Auftreten der Krankheitskomplexe Gebärparese, Labmagenverlagerung und Mastitis gewählt.

In den ersten 30 Tagen p.p. zeigte die Versuchsgruppe der Kühe eine signifikant höhere Milchleistung im Vergleich zur Kontrolle, wobei sich die akkumulierten Milchmengen über 150 Tage nicht signifikant unterschieden haben. Der Befund der höheren Milchleistung zu Beginn der Laktation bedarf aufgrund des Versuchsansatzes einer kritischen Bewertung. Die Zusammensetzung der Milchinhaltsstoffe unterschied sich nur geringfügig mit der Ausnahme eines signifikant niedrigeren Proteingehalts bei den Kühen der Versuchsgruppe an den Tagen der Milchleistungsprüfung zwischen dem 61. und 150. Laktationstag.

Der postpartale Verlauf der Körperkondition (RFD) und der Blutparameter unterstützen die Annahme einer stark ausgeprägten und lang andauernden negativen Energiebalance (NEB). In der Kontrollgruppe war im Mittel eine Abnahme der Körperkondition bis zum Versuchsende zu beobachten, während Tiere der Versuchsgruppe zwischen den Messzeitpunkten 98 und 140 Tage p.p. wieder an RFD zunahmten. In diesem Zeitintervall ist ein signifikanter Unterschied in der RFD zu Gunsten der Versuchsgruppe zu finden.

Die Blutanalysen zeigten keine großen Unterschiede im Gruppenvergleich, wobei eine leichte Tendenz für eine bessere Stoffwechselsituation der Versuchsgruppe erkennbar war. Die Fruchtbarkeitskennzahlen der Versuchs- und Kontrollgruppe unterscheiden sich nicht signifikant. Bezüglich der Inzidenz von Gebärpause und Mastitis gab es praktisch keine Unterschiede zwischen den Gruppen; die Inzidenz von Labmagenverlagerungen war in der Versuchsgruppe signifikant niedriger.

Unabhängig von der Verabreichung der Enzyme wurden einige zusätzliche und interessante Beobachtungen zwischen der RFD-Entwicklung, der Milchleistung, den NEFA-Konzentrationen und der Länge der Gützeiten gemacht: Tiere, die eine hohe Mobilisierung von Körperfett zeigten, gaben in 98 Laktationstagen mehr Milch als Tiere, die signifikant weniger mobilisierten. Letztere Tiere zeigten dabei signifikant niedrigere NEFA-Konzentrationen (Tage 3, 28 und 56 p.p.) sowie signifikant kürzere Gützeiten. Darüber hinaus konnte in der Gruppe der Tiere mit geringer Mobilisation eine Untergruppe von Kühen gefunden werden, die hohe Milchleistungen erbrachten, die im Mittel sogar über denen der Hoch-mobilisierenden Kühe lagen. Hier wurde folglich eine höhere Futteraufnahme und/oder bessere Futterverwertung angenommen. Diese Beobachtungen können eine Diskussionsgrundlage dafür sein, dass bei entsprechender züchterischer Selektion hohe Milchleistungen auch bei moderater Mobilisierung von Körperfett möglich sein können.

7 Summary

Impact of a Supplementation of Non-Starch-Polysacchararide (NSP)-hydrolyzing Enzymes and an α -Amylase on some Performance Parameters of Dairy Cows

For many years the application of feed enzymes to monogastric farm animals such as pigs and poultry has been utilized for purposes such as the reduction of the anti-nutritive effects of NSP or to enable a better utilization of animal feed. In the present study, the impact of a supplementation of a cellulase and an α -amylase on some performance parameters of dairy cows were examined. The trial was conducted on a commercial dairy farm and on a total of 416 animals divided into two groups (209 test- and 207 control-animals). Supplementation of the enzymes started on day 21 a.p. in both groups and continued for a total of 150 days in the test group while in the control group supplementation was discontinued after calving. The enzymes were separately sprayed on the total mixed ration (TMR) right before feeding.

Study parameters included milk performance and milk composition, body condition (Back Fat Thickness-(BFT) measuring 56, 28 days a.p. and 3, 28, 56, 98, 140 days p.p.), serum concentration of bilirubin, cholesterol, urea, aspartat-amino transferase, non esterified fatty acids (NEFA) and β -OH-butyrate (8 days a.p. and 3, 28, 56, 98, 140 days p.p.), reproduction parameters and the incidence of parturient paresis, dislocation of the abomasum and mastitis. In the first 30 days p.p., the test group of cows had a significantly higher milk performance compared to the control, although the accumulated milk performance of 150 days did not differ significantly. The observation of the higher milk yield in the beginning lactation has to be questioned because of the concept of the experiment. Overall, Milk composition did not differ except for significantly lower protein content in the test group at the milk performance tests (MLP) between 61 and 150 days post partum.

The development of body condition (BFT) and blood parameters after calving support the assumption of an intense and long lasting negative energy balance (NEB). In the control-group, an average decrease of body condition could be observed up to the end of the trial, whereas animals of the test-group gained some BFT between the measurements on days 98 and 140 post partum. During this time slice a significantly higher BFT value could be found in the test-group compared to the control group. Blood analysis did not show big differences between the groups, although a slight tendency for a better metabolic status of the test-group could be observed. The differences in the reproduction parameters between the groups were not significant. Concerning the incidences of parturient paresis and mastitis there were no differences between the groups; the incidence of dislocation of the abomasum was significantly lower in the test-group.

Independent of enzyme supplementation some additional and interesting observations between BFT-development, milk performance, NEFA-concentration and days open could be

Summary

made: animals, showing a high mobilization of body fat had a higher milk performance in the first 98 days of lactation compared to cows mobilizing significantly less. The latter animals therefore had significantly lower NEFA-concentrations and significantly less days open. Furthermore, in the low mobilization group a sub-group of cows could be found with a high milk performance, with average milk production exceeding that of the high-mobilization group. A higher feed intake and/or better feed utilization by these animals can be postulated. The selection of cows for breeding show that both a high milk performance and a moderate mobilization of body fat therefore seems to be worth discussing.

8 Literaturverzeichnis

- ARBEITSGEMEINSCHAFT DEUTSCHER RINDERZÜCHTER (ADR):
Rinderproduktion in Deutschland 2004
Jahrbuch
- AKIN, D. E. (1982)
Forage Cell-Wall Degradation and Para-Coumaric, Ferulic, and Sinapic Acids.
Agron J **74**(3): 424-428
- ALMIRALL, M. und ESTEVEGARCIA, E. (1995)
In-Vitro Stability of a Beta-Glucanase Preparation from *Trichoderma-Longibrachiatum*
and Its Effect in a Barley-Based Diet Fed to Broiler Chicks.
Anim Feed Sci Technol **54**(1-4): 149-158
- ANNISON, G. (1992)
Commercial Enzyme Supplementation of Wheat-Based Diets Raises Ileal Glycanase
Activities and Improves Apparent Metabolizable Energy, Starch and Pentosan
Digestibilities in Broiler-Chickens.
Anim Feed Sci Technol **38**(2-3): 105-121
- ANNISON, G. (1997)
The use of exogenous enzymes in ruminants diets.
In: *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*.
University of New England, Armidale, Australia: 8-16
- ANTRANIKIAN, G. (1992)
Microbial degradation of starch.
In: *Microbial Degradation of Natural Products*.
G. Winkelmann (Hrsg.)
VCH Publishers Inc., New York
- AUSTIN, B. R.; ALKIRE, D. O.; THRIFT, T. A. und KUNKLE, W. E. (2003)
Effects of fibrolytic enzyme supplementation on the performance of growing cattle fed
bermudagrass hay and molasses-based liquid supplements.
J Anim Sci **81** (Suppl. 1): 149 (Abstr.)
- BACH KNUDSEN, K. E. (1997)
Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding.
J. Anim. Feed Sci. Technol **67**: 319-338
- BACH KNUDSEN, K. E. (2001)
The nutritional significance of "dietary fiber" analysis.
J Anim Feed Sci Technol **90**: 3-20
- BAKKER, G. C.; DEKKER, R. A.; JONGBLOED, R. und JONGBLOED, A. W. (1998)
Non-starch polysaccharides in pig feeding.
Vet Q **20** Suppl 3: 59-64
- BARRERA, M.; CERVANTES, M.; SAUER, W. C.; ARAIZA, A. B. und TORRENTERA, N.
(2004)
Ileal amino acid digestibility and performance of growing pigs fed wheat-based diets
supplemented with xylanase.
J Anim Sci **82**(7): 1997-2003

- BAUCHOP, T. (1979)
Rumen Anaerobic Fungi of Cattle and Sheep.
Appl Environ Microbiol **38**(1): 148-158
- BEAM, S. W. und BUTLER, W. R. (1999)
Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows.
J Reprod Fertil **54**: 411-424
- BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D. und MORGAVI, D. P. (2004a)
A rationale for the development of feed enzyme products for ruminants.
Can J Anim Sci **84**(1): 23-36
- BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z. und RODE, L. M. (2004b)
Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants
Can J Anim Sci **84**(1): 13-22
- BEAUCHEMIN, K. A.; MORGAVI, D. P.; JONES, S. D. M.; RODE, L. M. und SEWALT, V. J. H. (1997)
Effects of fibrolytic enzymes in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle.
Ca J Anim Sci **77**: 645-653
- BEAUCHEMIN, K. A.; MORGAVI, D. P.; MCALLISTER, T. A.; YANG, W. Z. und RODE, L. M. (2001)
The use of enzymes in ruminant diets.
In: *Recent Advances in Animal Nutrition*.
P. C. Garnsworthy und J. Wiseman (Hrsg.)
Nottingham University Press, Loughborough, UK: 297-322
- BEAUCHEMIN, K. A. und RODE, L. M. (1996)
Use of feed enzymes in ruminant nutrition.
In: *Animal Science Research and Development: Meeting Future Challenges*,
Proc Can Soc Anim Sci Meeting, Lethbridge, Alberta, Canada: 103-130
- BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M. und KARREN, D. (1999a)
Use of feed enzymes in feedlot finishing diets.
Can J Anim Sci **79**(2): 243-246
- BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; MAEKAWA, M.; MORGAVI, D. P. und KAMPEN, R. (2000)
Evaluation of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets.
J Dairy Sci **83**(3): 543-53
- BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M. und SEWALT, V. J. H. (1995)
Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages.
Can J Anim Sci **75**(4): 641-644
- BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z. und RODE, L. M. (1999b)
Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows.
J Dairy Sci **82**(2): 378-90

- BEDFORD, M. R. (1995)
Mechanism of Action and Potential Environmental Benefits from the Use of Feed Enzymes.
Anim Feed Sci Technol **53**(2): 145-155
- BESLE, J. M.; CORNU, A. und JOUANY, J. P. (1994)
Roles of Structural Phenylpropanoids in Forage Cell-Wall Digestion.
J Sci Food Agric **64**(2): 171-190
- BHAT, M. K. und BHAT, S. (1997)
Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications.
Biotechnol Adv **15**(3-4): 583-620
- BHAT, M. K. und HAZLEWOOD, G. P. (2001)
Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases.
In: Enzymes in Farm Animal Nutrition.
M. R. Bedford und G. G. Partridge (Hrsg.)
Wallingford, UK: CABI Publishing: 11-60
- BÖHME, H. (1996)
Einsatz von Futterenzymen in der Schweinefütterung.
In: LAF-Information. Institut für Tierernährung der Bundesforschungsanstalt für
Landwirtschaft Braunschweig-Völkenrode:
W. Drochner / B. Zaccharias (Hrsg.): 106-118
- BÖNING, A., MEYER, U., SPOLDERS, M. (2005)
Effect of nonstarch polysaccharides (NSP) enzyme supplementation on ruminating
activities of dairy cows.
Proc Soc Nutr Physiol **14**: 149
- BOSTEDT, H. (2003)
Geburt und Nachgeburtsperiode.
In: Fruchtbarkeitsmanagement beim Rind.
H. Bostedt (Hrsg.), Frankfurt am Main: 191-255
- BOWMAN, G. R.; BEAUCHEMIN, K. A. und SHELFORD, J. A. (2002)
The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutrient
digestion by lactating dairy cows.
J Dairy Sci **85**(12): 3420-3429
- BOYLES, D. W.; RICHARDSON, C. R.; ROBINSON, K. D. und COBB, C. W. (1992)
Feedlot Performance of steers fed steam-flaked grain sorghum with added enzymes.
J Anim Sci (**43**) (Suppl. 1): 131 (Abstr.)
- BREVES, G. und LEONHARDT-MAREK, S. (2005)
Verdauungsvorgänge, Mikroorganismen und mikrobielle Stoffwechselprozesse in den
Vormägen.
In: Physiologie der Haustiere. W. v. Engelhardt und G. Breves (Hrsg.)
Stuttgart: Enke Verlag: 357-366
- BUCHHOLZ, K.; RAPP, P. und ZADRAZIL, F. (1984)
Cellulases.
In: Methods of Enzymatic Analysis.
H. U. Bergmeyer (Hrsg.), Weinheim: Verlag Chemie GmbH.
- BULANG, M.; KLUTH, H.; ENGELHARD, T.; SPILKE, J. und RODEHUTSCORD, M. (2006)
Studies on the use of lucerne silage as a forage source for high-yielding dairy cows.
J Anim Physiol Anim Nutr **90**(3-4): 89-102

- BURROUGHS, W.; WOODS, W.; EWING, S. A.; GREIG, J. und THEURER, B. (1960)
Enzyme Additions to Fattening Cattle Rations.
J Anim Sci **19**(2): 458-464
- BURTON, J. L. und ERSKINE, R. J. (2003)
Immunity and mastitis - Some new ideas for an old disease.
Vet Clin North Am Food Anim Pract **19**(1): 1-45
- BUTLER, W. R. (2003)
Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows.
Livest Prod Sci **83**(2-3): 211-218
- BUTTGEREIT, F.; BURMESTER, G. R. und BRAND, M. D. (2000)
Bioenergetics of immune functions: fundamental and therapeutic aspects.
Immunol Today **21**(4): 192-199
- CAMERON, R. E. B.; DYK, P. B.; HERDT, T. H.; KANEENE, J. B.; MILLER, R.; BUCHOLTZ, H. F.; LIESMAN, J. S.; VANDEHAAR, M. J. und EMERY, R. S. (1998)
Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds.
J Dairy Sci **81**(1): 132-139
- CANFIELD, R. W. und BUTLER, W. R. (1990)
Energy-Balance and Pulsatile-LH Secretion in Early Postpartum Dairy-Cattle.
Domest Anim Endocrinol **7**(3): 323-330
- CHENG, K. J.; STEWART, C. S.; DINSDALE, D. und COSTERTON, J. W. (1984)
Electron-Microscopy of Bacteria Involved in the Digestion of Plant-Cell Walls.
Anim Feed Sci Technol (**10**): 93-120
- CHESSON, A. (1993a)
Feed Enzymes.
Anim Feed Sci Technol **45**(1): 65-79
- CHESSON, A. (1993b)
Mechanistic models of forage cell wall degradation.
In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility.
H.G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield und J. Ralph (Hrsg.)
Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc.
Crop Sciencw Society of America, Inc.,
Soil Science Society of America, Inc.: 347-376
- CHOCT (1997)
Feed Non-Starch Polysaccharides: Chemical Structures and Nutritional Significance.
Feed Milling International (Juni-Ausgabe): 13-26
- CIANZIO, D. S.; TOPEL, D. G.; WHITEHURST, G. B.; BEITZ, D. C. und SELF, H. L. (1982)
Adipose-Tissue Growth in Cattle Representing 2 Frame Sizes - Distribution among Depots.
J Anim Sci **55**(2): 305-312
- CLARK, J. D.; DYER, I. A. und TEMPLETON, J. A. (1961)
Some Nutritional and Physiological Effects of Enzymes for Fattening Cattle.
J Anim Sci **20**(4): 928

- CLARKSON, K.; JONES, B.; BOTT, R.; BOWER, B.; CHOTANI, G. und BECKER, T. (2001)
Enzymes: screening, expression, design and production.
In: Enzymes in Farm Animal Nutrition.
M. R. Bedford und G. G. Partridge (Hrsg.)
Wallingford, UK: CABI Publishing: 315-352
- COLOMBATTO, D.; HERVAS, G.; YANG, W. Z. und BEAUCHEMIN, K. A. (2003a)
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**(10): 2617-2627
- COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; FURTADO, A. F. und BEAUCHEMIN, K. A. (2003b)
Screening of exogenous enzymes for ruminant diets: relationship between
biochemical characteristics and in vitro ruminal degradation.
J Anim Sci **81**(10): S. 2628-2638
- COLOMBATTO, D.; MOULD, F. L.; BHAT, M. K.; MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.
und OWEN, E. (2003c)
Influence of fibrolytic enzymes on the hydrolysis and fermentation of pure cellulose
and xylan by mixed ruminal microorganisms in vitro.
J Anim Sci **81**(4): 1040-1050
- DADO, R. G. und ALLEN, M. S. (1995)
Intake Limitations, Feeding-Behavior, and Rumen Function of Cows Challenged with
Rumen Fill from Dietary Fiber or Inert Bulk.
J Dairy Sci **78**(1): 118-133
- DE KRUIF, A.; HOEDEMAKER, M. und MANSFELD, R. (2007)
Stoffwechselkrankheiten.
In: Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind.
A. de Kruif, R. Mansfeld und M. Hoedemaker (Hrsg.)
Stuttgart: Enke-Verlag: 141-145
- DEAN, D. B.; KRUEGER, N.; SOLLENBERGER, L. E.; LITTELL, R. C. und ADESOGAN, A.
T. (2003)
The effect of treatment of bermudagrass and bahiagrass hays with fibrolytic enzymes
on digestibility in vitro.
Tropical and Subtropical Agroecosystems(3): 197-200
- DEFRAIN, J. M.; HIPPEN, A. R.; KALSCHUR, K. F. und TRICARICO, J. M. (2005)
Effects of dietary alpha-amylase on metabolism and performance of transition dairy
cows.
J Dairy Sci **88**(12): S. 4405-4413
- DEHORITY, B. A. (1993)
Microbial ecology of cell wall fermentation.
In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility.
H.G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield und J. Ralph (Hrsg.)
Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc.
Crop Science Society of America, Inc.
Soil Science Society of America, Inc.: 425-453
- DEVRIES, J. W.; PROSKY, L.; LI, B. und CHO, S. (1999)
A historical perspective on defining dietary fiber.
Cereal Foods World **44**(5): 367-369

- DHIMAN, T. R.; ZAMAN, M. S.; GIMENEZ, R. R.; WALTERS, J. L. und TREACHER, R. (2002)
Performance of dairy cows fed forage treated with fibrolytic enzymes prior to feeding.
Anim Feed Sci Technol **101**(1-4): 115-125
- DIRKSEN, G. (1961)
Die Erweiterung, Verlagerung Und Drehung des Labmagens Beim Rind.
Zentralbl Veterinarmed **8**(10): 935-1013
- DONG, Y.; BAE, H. D.; MCALLISTER, T. A.; MATHISON, G. W. und CHENG, K. J. (1999)
Effects of exogenous fibrolytic enzymes, alpha-bromoethanesulfonate and monensin on fermentation in a rumen simulation (RUSITEC) system.
Can J Anim Sci **79**(4): 491-498
- DRACKLEY, J. K. (2002)
The role of nutrition and management in prevention of metabolic disorders in periparturient dairy cows.
in: BPT-Kongress, Nürnberg: Vortragszusammenfassungen: 28-45
- DUSEL, G.; KLUGE, H.; GLASER, K.; SIMON, O.; HARTMANN, G.; VONLENGERKEN, J. und JEROCH, H. (1997)
An investigation into the variability of extract viscosity of wheat - Relationship with the content of non-starch-polysaccharide fractions and metabolisable energy for broiler chickens.
Arch Tierernähr **50**(2): 121-135
- ELWAKEEL, E. A.; TITGEMEYER, E. C.; JOHNSON, B. J.; ARMENDARIZ, C. K. und SHIRLEY, J. E. (2007)
Fibrolytic enzymes to increase the nutritive value of dairy feedstuffs.
J Dairy Sci **90**(11): 5226-5236
- FLEISCHER, P.; METZNER, M.; BEYERBACH, M.; HOEDEMAKER, M. und KLEE, W. (2001)
The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows.
J Dairy Sci **84**(9): 2025-2035
- FÖRSTER, D. (2003)
Zum Einsatz von Nicht-Stärke-Polysaccharid (NSP)-hydrolysierenden Enzymen in der Legehennenfütterung.
Übers Tierernähr **(31)**: 1-28
- FRAHMEN, K.; GRAF, F.; KRÄUSSLICH, H. und OSTERKORN, K. (1978)
Enzymaktivitäten in Rinderorganen. 2. Mitteilung: Organanalysen bei Holstein-Friesian-Kühen.
Zbl Vet Med A **(25)**: 197-206
- FREDEEN, A. H. und MCQUEEN, R. E. (1993)
Effect of Enzyme Additives on Quality of Alfalfa Grass-Silage and Dairy-Cow Performance.
Can J Anim Sci **73**(3): 581-591
- FREITAL, J. (2003)
Rekonvaleszenz und Verbleib von Kühen nach Behebung der linksseitigen Labmagenverlagerung mittels perkutaner Abomasopexie nach GRYSMER und STERNER im Vergleich zur Omentopexie nach DIRKSEN.
Hannover, TiHo Hannover, Dissertation med.vet.

- FRIGGENS, N. C.; BERG, P.; THEILGAARD, P.; KORSGAARD, I. R.; INGVARTSEN, K. L.; LOVENDAHL, P. und JENSEN, J. (2007)
Breed and parity effects on energy balance profiles through lactation: evidence of genetically driven body energy change.
J Dairy Sci **90**(11): 5291-5305
- FÜRLL, B.; DABBAGH, N. und FÜRLL, M. (1998)
Reperfusionsschäden: theoretisch begründet-beim Nutztier beeinflussbar? Zur Ätiologie, Pathogenese und Prophylaxe der geburtsnahen Labmagenverlagerung (Dislocatio abomasi-DA) bei Kühen.
in: Ätiologie, Pathogenese, Diagnostik, Prognose, Therapie und Prophylaxe der Dislocatio abomasi.
Proc International Workshop Leipzig: 255-271
- FÜRLL, M. (1997)
Fit und gesund in die neue Laktation.
Milchrind **6**: 48-51
- FÜRLL, M. (2000)
Das Fettmobilisationssyndrom.
Großtierpraxis **1**: 24-34
- FÜRLL, M. (2002)
Damit der Stoffwechsel auch in kritischen Phasen nicht verrückt spielt.
In: Stoffwechselstörungen bei Wiederkäuern: Erkennen-Behandeln-Vorbeugen.
M. Fürll (Hrsg.), Med Tierklinik Leipzig: 2-13
- FÜRLL, M. (2004)
Stoffwechselkontrollen und -überwachung bei Rindern. Teil 1: Chancen, Regeln und Risiken.
Nutztierpraxis Akt **9**: 4-8
- FÜRLL, M. (2005)
Stoffwechseldiagnostik und -überwachung bei Milchkühen (Vortrag).
in: 3. Leipziger Tierärztekongress, Januar 2005
- FÜRLL, M. und KLEISER, L. (1998)
Screening zur Früherkennung einer Disposition für die Dislocatio abomasi bei Kühen.
In: Stoffwechselbelastung, -diagnostik und -stabilisierung beim Rind.
M. Fürll (Hrsg.), Med Tierklinik Leipzig: 95-104
- FÜRLL, M. und SCHAFFER, M. (1992)
Lipolysis and Hyperbilirubinemia - Contribution to Pathogenesis of Icterus.
Monatsh Veterinarmed **47**(4): 181
- GALLO, L.; CARNIER, P.; CASSANDRO, M.; MANTOVANI, R.; BAILONI, L.; CONTIERO, B. und BITTANTE, G. (1996)
Change in body condition score of Holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield.
J Dairy Sci **79**(6): 1009-1015
- GEELLEN, M. J. H. und WENSING, T. (2006)
Studies on hepatic lipidosis and coinciding health and fertility problems of high-producing dairy cows using the "Utrecht fatty liver model of dairy cows". A review.
Vet Q **28**(3): 90-104

- GEISHAUSER, T. (1995)
Abomasal displacement in the bovine—a review on character, occurrence, aetiology and pathogenesis.
Zentralbl Veterinarmed A **42**(4): 229-251
- GEISHAUSER, T.; LESLIE, K. und DUFFIELD, T. (2000)
Metabolic aspects in the etiology of displaced abomasum.
Vet Clin North Am Food Anim Pract **16**(2): 255
- GIRALDO, L. A.; TEJIDO, M. L.; RANILLA, M. J. und CARRO, M. D. (2007)
Effects of exogenous cellulase supplementation on microbial growth and ruminal fermentation of a high-forage diet in Rusitec fermenters.
J Anim Sci **85**(8): 1962-1970
- GOFF, J. P. und HORST, R. L. (1997)
Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders.
J Dairy Sci **80**(7): 1260-1268
- GOMEZ DE SEGURA, B.; DURAND, R.; RASCLE, C. und FISSEUX, C. (1994)
The xylanolytic system of rumen anaerobic fungi.
In: Microorganisms in Ruminant Nutrition.
R. A. Prins und C. S. Stewart (Hrsg.)
Nottingham, UK: Nottingham University Press: 127-135
- GORDON, G. L. R. und PHILLIPS, M. W. (1995)
New approaches for the manipulation of anaerobic fungi in the rumen.
In: Recent Advances in Animal Nutrition in Australia.
Armidale, Australia: University of New England: 108-115
- GOYAL, A.; GHOSH, B. und EVELEIGH, D. (1991)
Characteristics of Fungal Cellulases.
Bioresour Technol **36**(1): 37-50
- GRAHAM, H.; FADEL, J. G.; NEWMAN, C. W. und NEWMAN, R. K. (1989)
Effect of Pelleting and Beta-Glucanase Supplementation on the Ileal and Fecal Digestibility of a Barley-Based Diet in the Pig.
J Anim Sci **67**(5): 1293-1298
- GRAINGER, R. B. und STROUD, J. W. (1960)
Effect of Enzymes on Nutrient Digestion by Wethers.
J Anim Sci **19**(4): 1263-1264
- GRUMMER, R. R. (1993)
Etiology of Lipid-Related Metabolic Disorders in Periparturient Dairy-Cows.
J Dairy Sci **76**(12): 3882-3896
- GRUMMER, R. R. (1995)
Impact of Changes in Organic Nutrient Metabolism on Feeding the Transition Dairy-Cow.
J Anim Sci **73**(9): 2820-2833
- GRÜNDER, H. D. (1991)
Aussagefähigkeit von Blutuntersuchungsbefunden.
Prakt Tierarzt **72**: 12-17
- GRUNERT, E. (1983)
Etiology, Pathogenesis and Therapy of Retained Bovine Placenta.
Wien Tierarztl Monatsschr **70**(6-7): 230-235

- GRUNERT, E. und ANDRESEN, P. (1996)
Geburtshilfe.
In: Buiatrik Band I.
E. Grunert (Hrsg.), Alfeld-Hannover, Verlag M.&H. Scharper: 129-190
- GWAYUMBA, W., CHRISTENSEN, D.A. (1997)
The effects of fibrolytic enzymes on protein and carbohydrate degradation fractions in forages.
Can J Anim Sci **77**: 541-542
- HABERER, B. und SCHULZ, E. (1998)
Zum Einfluß NSP-hydrolysierender Enzyme in der Schweinefütterung.
Übers Tierernährg **26**: 25-64
- HABERER, B.; SCHULZ, E.; AULRICH, K. und FLACHOWSKY, G. (1998)
Effects of beta-glucanase and xylanase supplementation in pigs fed a diet rich in nonstarch polysaccharides: Composition of digesta in different prececal segments and postprandial time.
J Anim Physiol Anim Nutr **78**(2): 84-94
- HAMANN, J. (2002)
Zum Erreger- und Entzündungsnachweis der Mastitidiagnostik-Befunderhebung und Konsequenzen für Bekämpfungsmaßnahmen der bovinen Mastitis.
In: BPT-Kongress Nürnberg, Nov. 2002, Vortragszusammenfassungen: 81-92
- HARLAND, B. F. und OBERLEAS, D. (2001)
Effects of Dietary Fiber and Phytate on the Homeostasis and Bioavailability of Minerals.
In: CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition.
G. A. Spiller (Hrsg.), CRC Press: 161-178
- HATFIELD, R. D. (1993)
Cell wall polysaccharide interactions and degradability.
In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility.
H.G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield und J. Ralph (Hrsg.)
Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc.
Crop Sciencw Society of America, Inc.,
Soil Science Society of America, Inc.: 285-313
- HAYIRLI, A. (2006)
The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle.
Vet Res Commun **30**(7): 749-774
- HERDT, T. H. (2000)
Ruminant adaptation to negative energy balance - Influences on the etiology of ketosis and fatty liver.
Vet Clin North Am Food Anim Pract **16**(2): 215
- HERRERA-SALDANA, R.; GOMEZ-ALARCON, R.; TORABI, M. und HUBER, J. T. (1990)
Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis.
J Dairy Sci **73**(1): 142-148

- HOEDEMAKER, M.; MANSFELD, R. und DE KRUIF, A. (2007)
Ergebnisinterpretation und Strategien einzelner Kontrollbereiche-Fruchtbarkeit.
In: Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind.
A. de Kruiif, R. Mansfeld und M. Hoedemaker (Hrsg.)
Stuttgart, Enke-Verlag: 30-71
- HONG, S. H.; LEE, B. K.; CHOI, N. J.; LEE, S. S.; YUN, S. G. und HA, J. K. (2003)
Effects of enzyme application method and levels and pre-treatment times on rumen
fermentation, nutrient degradation and digestion in goats and steers.
Asian-Australas J Anim Sci **16**(3): 389-393
- HOOVER, W. H. und STOKES, S. R. (1991)
Balancing Carbohydrates and Proteins for Optimum Rumen Microbial Yield.
J Dairy Sci **74**(10): 3630-3644
- HRISTOV, A. N.; IVAN, M.; RODE, L. M. und MCALLISTER, T. A. (2001)
Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed
medium- or high-concentrate barley-based diets.
J Anim Sci **79**(2): 515-524
- HRISTOV, A. N.; MCALLISTER, T. A. und CHENG, K. J. (1998a)
Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-
degrading enzymes on rumen fermentation and nutrient digestibility.
J Anim Sci **76**(12): 3146-56
- HRISTOV, A. N.; MCALLISTER, T. A. und CHENG, K. J. (1998b)
Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzymes in the rumen.
Anim Feed Sci Technol **76**(1-2): 161-168
- HRISTOV, A. N.; MCALLISTER, T. A. und CHENG, K. J. (2000)
Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide-
degrading enzymes: Effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet.
J Anim Sci **78**(2): 477-487
- 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.
In: Proc Western Sect Amer Soc Anim Sci (**47**):282-284
- IKEGAMI, S.; TSUCHIHASHI, F.; HARADA, H.; TSUCHIHASHI, N.; NISHIDE, E. und
INNAMI, S. (1990)
Effect of Viscous Indigestible Polysaccharides on Pancreatic-Biliary Secretion and
Digestive Organs in Rats.
J Nutr **120**(4): 353-360
- INGVARTSEN, K. L. (2006)
Feeding- and management-related diseases in the transition cow - Physiological
adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases.
Anim Feed Sci Technol **126**(3-4): 175-213
- IWASSA, A. D., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., EIVEMARK, S. (1997)
Effect of fibrolytic enzymes in barley-based diets on performance of feedlot cattle and
in vitro gas production.
in: Proceedings Joint RRI-INRA Rumen microbiology symposium.
Aberdeen, Schottland: 3-84

- JANOSI, S.; KULCSAR, M.; KORODI, P.; KATAI, L.; REICZIGEL, J.; DIELEMANN, S. J.; NILOLIC, J. A.; SALYI, G.; RIBICZEY-SZABO, P. und HUSZENICZA, G. (2003)
Energy imbalance related predisposition to mastitis in group-fed high-producing postpartum dairy cows.
Acta Vet Hung **51**(3): 409-424
- JEROCH, H.; DROCHNER, W. und SIMON, O. (1999)
Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere
Stuttgart, Eugen Ulmer Verlag bzw. UTB für Wissenschaft
- JOUANY, J. P. und USHIDA, K. (1994)
Plant cell-wall degradation by rumen protozoa.
In: *Microorganisms in Ruminant Nutrition*.
R. A. Prins und C. S. Stewart (Hrsg.)
Nottinham, UK: Nottingham University Press: 69-78
- JUDKINS, M. B. und STOBART, R. H. (1988)
Influence of 2 Levels of Enzyme Preparation on Ruminal Fermentation, Particulate and Fluid Passage and Cell-Wall Digestion in Wether Lambs Consuming Either a 10-Percent or 25-Percent Grain Diet.
J Anim Sci **66**(4): 1010-1015
- JURKOVICH, V.; BRYDL, E.; RAFAI, P.; KONYVES, L.; TEGZES, L.; KUTASI, J.; BATA, A.; NAGY, G.; BARTYIK, J. und FULOP, A. (2002)
Effects of a non-starch polysaccharidase enzyme preparation from *Thermomyces lanuginosus* on energy and protein metabolism and milk yield of dairy cattle.
Acta Vet Hung **50**(4): 395-411
- KANEENE, J. B.; MILLER, R.; HERDT, T. H. und GARDINER, J. C. (1997)
The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows.
Prev Vet Med **31**(1-2): 59-72
- KNOWLTON, K. F. (2001)
High grain diets for dairy cattle.
In: *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*.
University of New England: 19-28
- KNOWLTON, K. F.; MCKINNEY, J. M. und COBB, C. (2002)
Effect of a direct-fed fibrolytic enzyme formulation on nutrient intake, partitioning, and excretion in early and late lactation Holstein cows.
J Dairy Sci **85**(12): 3328-3335
- KNOWLTON, K. F.; TAYLOR, M. S.; HILL, S. R.; COBB, C. und WILSON, K. F. (2007)
Manure nutrient excretion by lactating cows fed exogenous phytase and cellulase.
J Dairy Sci **90**(9): 4356-4360
- KOLB, E. (2000)
In: *Lexikon der Veterinärmedizin: Definition des Begriffes "Enzyme"*
E. Wiessner und R. Ribbeck (Hrsg.)
Enke Verlag, Stuttgart
- KRAFT, W. und DÜRR, U. M. (2005)
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 6. Auflage
Stuttgart, Schattauer GmbH

- KRAUSE, D. O.; DENMAN, S. E.; MACKIE, R. I.; MORRISON, M.; RAE, A. L.; ATTWOOD, G. T. und MCSWEENEY, C. S. (2003)
Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics.
Fems Microbiol Rev **27**(5): 663-693
- KRAUSE, M.; BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; FARR, B. I. und NORGAARD, P. (1998)
Fibrolitic enzyme treatment of barley grain and source of forage in high-grain diets fed to growing cattle.
J Anim Sci **76**(11): 2912-2920
- KRAUSE, M., FARR, B.I., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., NORGARD, P. (1997)
The effects of fibrolitic enzymes on ruminal digestion kinetics of whole barley grain.
Can J Anim Sci **77**: 541
- KRUEGER, N.; STAPLES, C. R.; LITTELL, R. C.; DEAN, D. B.; KRUEGER, W. und ADESOGAN, A. T. (2003a)
The influence of enzymes containing high esterase, cellulase and endogalacturonase activity on the digestibility of mature, C₄ grass hays.
Tropical and Subtropical Agroecosystems **3**: 201-204
- KRUEGER, N.; STAPLES, C. R.; LITTELL, R. C.; DEAN, D. B.; KRUEGER, W. und ADESOGAN, A. T. (2003b)
The potential for increasing the digestibility of poor quality forages with a fungal ferulic acid esterase enzyme preparation.
Tropical and Subtropical Agroecosystems **3**: 205-208
- KUNG, L.; COHEN, M. A.; RODE, L. M. und TREACHER, R. J. (2002)
The effect of fibrolitic enzymes sprayed onto forages and fed in a total mixed ratio to lactating dairy cows.
J Dairy Sci **85**(9): 2396-2402
- KUNG, L.; TREACHER, R. J.; NAUMAN, G. A.; SMAGALA, A. M.; ENDRES, K. M. und COHEN, M. A. (2000)
The effect of treating forages with fibrolitic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows.
J Dairy Sci **83**(1): 115-122
- LAVEN, R. A. und PETERS, A. R. (1996)
Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss.
Vet Rec **139**(19): 465-471
- LEWIS, G. E.; HUNT, C. W.; SANCHEZ, W. K.; TREACHER, R.; PRITCHARD, G. T. und FENG, P. (1996)
Effect of direct-fed fibrolitic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers.
J Anim Sci **74**(12): 3020-3028
- LEWIS, G. E.; SANCHEZ, W. K.; HUNT, C. W.; GUY, M. A.; PRITCHARD, G. T.; SWANSON, B. I. und TREACHER, R. J. (1999)
Effect of direct-fed fibrolitic enzymes on the lactational performance of dairy cows.
J Dairy Sci **82**(3): 611-617
- LEWIS, G. S. (1997)
Uterine health and disorders.
J Dairy Sci **80**(5): 984-994

- LOPEZ-GATIUS, F.; YANIZ, J. und MADRILES-HELM, D. (2003)
Effects of body condition score and score change on the reproductive performance of dairy cows: a meta-analysis.
Theriogenology **59**(3-4): 801-812
- LOTTHAMMER, K. H. (1981)
Gesundheits- und Fruchtbarkeitsstörungen beim Milchrind - klinisch-chemische Untersuchungen als Hilfsmittel zur Herdendiagnostik (Klärung der Ursache).
Tierärztl Praxis**(9)**: 541-551
- LUCY, M. C. (2001)
ADSA Foundation Scholar Award - Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?
J Dairy Sci **84**(6): 1277-1293
- LUCY, M. C.; STAPLES, C. R.; MICHEL, F. M.; THATCHER, W. W. und BOLT, D. J. (1991)
Effect of Feeding Calcium Soaps to Early Postpartum Dairy-Cows on Plasma Prostaglandin-F2-Alpha Luteinizing-Hormone, and Follicular-Growth.
J Dairy Sci **74**(2): 483-489
- LUCY, M. C.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; ERICKSON, P. S.; CLEALE, R. M.; FIRKINS, J. L.; CLARK, J. H.; MURPHY, M. R. und BRODIE, B. O. (1992)
Influence of Diet Composition, Dry-Matter Intake, Milk-Production and Energy-Balance on Time of Postpartum Ovulation and Fertility in Dairy-Cows.
Anim Prod **54**: 323-331
- MALBURG, L. M.; TAMBLYN LEE, J. M. und FORSBERG, C. W. (1992)
Degradation of cellulose and hemicellulose by rumen microorganisms.
In: Microbial Degradation of Natural Products.
G. Winkelmann (Hrsg.), New York: VCH Publishers
- MARTENS, H. (1998)
Beziehungen zwischen Fütterung, Physiologie der Vormägen und Pathogenese der Dislocatio abomasi.
In: Intern Workshop Leipzig, Proceedings: 81-101
- MARTENS, H. (2007)
The Dairy Cow: Physiological Facts and Concerns.
In: 13th International Conference on Production Diseases in Farm Animals, Leipzig, 29. Juli- 4. August 2007, Proceedings 26-42
- MARTIN, C. und MICHALETDOREAU, B. (1995)
Variations in Mass and Enzyme-Activity of Rumen Microorganisms - Effect of Barley and Buffer Supplements.
J Sci Food Agric **67**(3): 407-413
- MATHERS, J. C. und MILLER, E. L. (1981)
Quantitative Studies of Food Protein-Degradation and the Energetic Efficiency of Microbial Protein-Synthesis in the Rumen of Sheep Given Chopped Lucerne and Rolled Barley.
Br J Nutr **45**(3): 587-604
- MCALLISTER, T. A.; BAE, H. D.; JONES, G. A. und CHENG, K. J. (1994a)
Microbial Attachment and Feed Digestion in the Rumen.
J Anim Sci **72**(11): 3004-3018

- MCALLISTER, T. A., BAE, H.D., YANKE, L.J., CHENG, K.J., HA, J.K. (1994b)
A review of the microbial digestion of feed particles in the rumen.
Asian-Australas J Anim Sci **7**: 303-316
- MCALLISTER, T. A. und CHENG, K. J. (1996)
Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains.
Anim Feed Sci Technol **62**(1): 29-36
- MCALLISTER, T. A.; DONG, Y.; YANKE, L. J.; BAE, H. D.; CHENG, K. J. und
COSTERTON, J. W. (1993)
Cereal Grain Digestion by Selected Strains of Ruminal Fungi.
Can J Microbiol **39**(4): 367-376
- MCALLISTER, T. A.; OOSTING, S. J.; POPP, J. D.; MIR, Z.; YANKE, L. J.; HRISTOV, A. N.;
TREACHER, R. J. und CHENG, K. J. (1999)
Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance
of feedlot cattle.
Can J Anim Sci **79**(3): 353-360
- MCALLISTER, T. A.; STANFORD, K.; BAE, H. D.; TREACHER, R. J.; HRISTOV, A. N.;
BAAH, J.; SHELFORD, J. A. und CHENG, K. J. (2000)
Effect of a surfactant and exogenous enzymes on digestibility of feed and on growth
performance and carcass traits of lambs.
Can J Anim Sci **80**(1): 35-44
- MCDONALD, P. (2002)
Animal Nutrition, 6. Auflage
Harlow, England: Pearson Education Ltd.
- MERLE, R. (2003)
Beziehungen zwischen Eutergesundheit und Funktionalität von aus Blut und Milch
isolierten Leukozyten des Rindes unter besonderer Berücksichtigung der
Chemielumineszenz.
Hannover, TiHo. Hannover, Dissertation med.vet.
- 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): 296 (Abstr.)
- MILLS, J. A. N.; FRANCE, J. und DIJKSTRA, J. (1999a)
A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic
model: 1. Dietary starch characterisation and ruminal starch digestion.
J of Anim Feed Sci **8**(3): 291
- MILLS, J. A. N.; FRANCE, J. und DIJKSTRA, J. (1999b)
A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic
model: 2. Postruminal starch digestion and small intestinal glucose absorption.
J Anim Feed Sci **8**(4): 451-481
- MORA, G., BARCENA, R., MENDOZA, G., GONZALEZ, S., HERRERA, J. (2001)
Exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* improve starch
digestion but not performance of sheep.
J Anim Sci **79** (Suppl. 1): 281(Abstr.)

- MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.; NSEREKO, V. L.; RODE, L. M.; IWAASA, A. D.; YANG, W. Z.; MCALLISTER, T. A. und WANG, Y. (2000a)
Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*.
J Dairy Sci **83**(6): 1310-1321
- MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.; NSEREKO, V. L.; RODE, L. M.; MCALLISTER, T. A.; IWAASA, A. D.; WANG, Y. und YANG, W. Z. (2001)
Resistance of feed enzymes to proteolytic inactivation by rumen microorganisms and gastrointestinal proteases.
J Anim Sci **79**(6): 1621-30
- MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A.; NSEREKO, V. L.; RODE, L. M.; MCALLISTER, T. A. und WANG, Y. X. (2004)
Trichoderma enzymes promote *Fibrobacter succinogenes* S85 adhesion to, and degradation of, complex substrates but not pure cellulose.
J Sci Food Agric **84**(10): 1083-1090
- MORGAVI, D. P.; NEWBOLD, C. J.; BEEVER, D. E. und WALLACE, R. J. (2000b)
Stability and stabilization of potential feed additive enzymes in rumen fluid.
Microb Technol **26**:171-177
- MURILLO, M., CASTRO, H.L., SANCHEZ, J.F., VASQUEZ, M.S. CUZ, J. , ALVAEZ, E.G., ZINN, R.A. (2000)
Interaction of forage level and fibrolytic enzymes on digestive function in cattle.
In: Proc West Sec Amer Soc Anim Sci: 324-326
- NAKASHIMA, Y.; ORSKOV, E. R.; HOTTEN, P. M.; AMBO, K. und TAKASE, Y. (1988)
Rumen Degradation of Straw .6. Effect of Polysaccharidase Enzymes on Degradation Characteristics of Ensiled Rice Straw.
Anim Prod **47**: 421-427
- NAYLOR, J. M.; KRONFELD, D. S. und JOHNSON, K. (1980)
Fasting Hyperbilirubinemia and Its Relationship to Free Fatty-Acids and Triglycerides in the Horse.
Proc Soc Ex Biol Med **165**(1): 86-90
- NELSON, L. F. und CATRON, D. V. (1960)
Comparison of Different Supplemental Enzymes with and without Diethylstilbestrol for Fattening Steers.
J Anim Sci **19**(4): 1279-1279
- NEWBOLD, C. J. (1997)
Proposed mechanisms for enzymes as modifiers of ruminal fermentation.
In: Proceedings of the 8th annual Florida Ruminant Nutrition Symposium.
University of Florida: 146-159
- NIVER, J. W.; TUCKER, R. E. und MITCHELL, G. E. (1973)
Fiber Digestion in Lambs Fed an Extract of *Aspergillus-Oryzae*.
J Anim Sci **37**(6): 1446-1450
- NOWAK, W.; KRUCZYNSKA, H. und GROCHOWSKA, S. (2003)
The effect of fibrolytic enzymes on dry matter, ADF and NDF ruminal disappearance and intestinal digestibility.
Czech J Anim Sci **48**(5): 191-196

- NOZIERE, P.; BESLE, J. M.; MARTIN, C. und MICHALETDOREAU, B. (1996)
Effect of barley supplement on microbial fibrolytic enzyme activities and cell wall degradation rate in the rumen.
J Sci Food Agric **72**(2): 235-242
- NOZIERE, P. und MICHALETDOREAU, B. (1997)
Effects of amount and availability of starch on amylolytic activity of ruminal solid-associated microorganisms.
J Sci Food Agric **73**(4): 471-476
- NSEREKO, V. L.; BEAUCHEMIN, K. A.; MORGAVI, D. P.; RODE, L. M.; FURTADO, A. F.; MCALLISTER, T. A.; IWAASA, A. D.; YANG, W. Z. und WANG, Y. (2002)
Effect of a fibrolytic enzyme preparation from *Trichoderma longibrachiatum* on the rumen microbial population of dairy cows.
Can J Microbiol **48**(1): 14-20
- NSEREKO, V. L.; MORGAVI, D. P.; BEAUCHEMIN, K. A. und RODE, L. M. (2000a)
Inhibition of ruminant feed enzyme polysaccharidase activities by extracts from silages.
Can J Anim Sci **80**(3): 523-526
- NSEREKO, V. L.; MORGAVI, D. P.; RODE, L. L. M.; BEAUCHEMIN, K. A. und MCALLISTER, T. A. (2000b)
Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms in vitro.
Anim Feed Sci Technol **88**(3-4): 153-170
- OFFICER, D. I. (2000)
Feed Enzymes.
In: Farm Animal Metabolism and Nutrition.
J. P. F. D Mello (Hrsg.)
Wallingford, UK: CABI Publishing: 405-426
- OHTSUKA, H.; KOIWA, M.; HATSUGAYA, A.; KUDO, K.; HOSHI, F.; ITOH, N.; YOKOTA, H.; OKADA, H. und KAWAMURA, S. (2001)
Relationship between serum TNF activity and insulin resistance in dairy cows affected with naturally occurring fatty liver.
J Vet Med Sci **63**(9): 1021-1025
- ORSKOV, E. R. (1986)
Starch Digestion and Utilization in Ruminants.
J Anim Sci **63**(5): 1624-1633
- OUELLET, D. R. und CHIQUETTE, J. (2001)
Effect of direct-fed microbials supplementation on dairy cows fed nitrogen deficient diets and on in vitro bacterial growth.
J Anim Sci (**79**) (Suppl. 1): 280 (Abstr.)
- PATEL, M.; JOHNSON, J. S.; BRETTELL, R. I. S.; JACOBSEN, J. und XUE, G. P. (2000)
Transgenic barley expressing a fungal xylanase gene in the endosperm of the developing grains.
Mol Breed **6**(1): 113-123
- PERRY, T. W.; COPE, D. D. und BEESON, W. M. (1960)
Low vs high moisture shelled corn without enzymes and stilbestrol for fattening steers.
J Anim Sci **19**: 1284 (Abstr.)

- PERRY, T. W.; PURKHISE, E. D. und BEESON, W. M. (1966)
Effects of Supplemental Enzymes on Nitrogen Balance Digestibility of Energy and Nutrients and on Growth and Feed Efficiency of Cattle.
J Anim Sci **25**(3): 760-764
- PINOS-RODRIGUEZ, J. M.; GONZALEZ, S. S.; MENDOZA, G. D.; BARCENA, R.; COBOS, M. A.; HERNANDEZ, A. und 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**(11): 3016-3020
- PLUSKE, J. R.; PETHIK, D. W.; DURMIC, Z.; HAMPSON, D. J. und MULLAN, B. P. (1999)
Non-starch polysaccharides in pig diets and their influence on intestinal microflora.
In: Recent Developments in Pig Nutrition.
P. C. Garnsworthy und J. Wiseman (Hrsg.)
Nottingham, UK: Nottingham University Press: 123-160
- PRAVETTONI, D.; DOLL, K.; HUMMEL, M.; CAVALLONE, E.; RE, M. und BELLOLI, A. G. (2004)
Insulin resistance and abomasal motility disorders in cows detected by use of abomasoduodenal electromyography after surgical correction of left displaced abomasum.
Am J Vet Res **65**(10): 1319-1324
- PRITCHARD, G. T.; HUNT, C. W.; ALLEN, A. und TREACHER, R. (1996)
Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on digestion and growth performance in beef cattle.
J Anim Sci **74** (Suppl. 1): 296 (Abstr.)
- PRYCE, J. E.; COFFEY, M. P. und SIMM, G. (2001)
The relationship between body condition score and reproductive performance.
J Dairy Sci **84**(6): 1508-1515
- PULLEN, D. L.; PALMQUIST, D. L. und EMERY, R. S. (1989)
Effect on Days of Lactation and Methionine Hydroxy Analog on Incorporation of Plasma Fatty-Acids into Plasma Triglycerides.
J Dairy Sci **72**(1): 49-58
- PUSHPAKUMARA, P. G. A.; GARDNER, N. H.; REYNOLDS, C. K.; BEEVER, D. E. und WATHES, D. C. (2003)
Relationships between transition period diet, metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows.
Theriogenology **60**(6): 1165-1185
- REA, J. C. und ROSS, C. V. (1960)
Response of Lambs to Energy and Protein Levels, Hormone Implants and Enzymes.
J Anim Sci **19**(4): 1288-1288
- REIS, R. B. und COMBS, D. K. (2000)
Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass-legume pasture.
J of Dairy Sci **83**(12): 2888-2898
- REZAMAND, P.; HOAGLAND, T. A.; MOYES, K. M.; SILBART, L. K. und ANDREW, S. M. (2007)
Energy status, lipid-soluble vitamins, and acute phase proteins in periparturient holstein and Jersey dairy cows with or without subclinical mastitis.
J Dairy Sci **90**(11): 5097-5107

- RICHARDSON, C. R.; KRAUSE, O. G.; LOMAX, D. A. und COBB, C. W. (1990)
Utilization of steam-flaked grain sorghum with added "grain sorghum specific"
enzyme mixture by growing steers.
J Anim Sci **68** (Suppl. 1): 538 (Abstr.)
- RICKEN, G. E. (2005)
Transport von Calcium über das isolierte Pansenepithel des Rindes.
Hannover, TiHo Hannover, Dissertation med.vet.
- RODE, L. M. (2006)
The effect of the fibrolytic enzyme mixture EGL on milk production and feed intake of
dairy cows-an evaluation of six studies.
Report for DSM Nutritional Products
- RODE, L. M.; MCALLISTER, T. A.; BEAUCHEMIN, K. A.; MORGAVI, D. P.; NSEREKO, V.
L.; YANG, W. Z.; IWAASA, A. D. und WANG, Y. (2001)
Enzymes as direct-feed additives for ruminants.
In: Biotechnology in Human Husbandry.
Dordrecht, Springer Netherlands: 301-332
- RODE, L. M.; YANG, W. Z. und BEAUCHEMIN, K. A. (1999)
Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation.
J Dairy Sci **82**(10): 2121-2126
- ROJO, R.; MENDOZA, G. D.; GONZALEZ, S.; BARCENA, R.; CROSBY, M. und LANDOIS,
L. (2001)
Use of exogenous enzymes from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* in high
grain diets.
J Anim Sci **79** (Suppl. 1): 280 (Abstr.)
- ROSSOW, N. und HORVARTH, Z. (1988)
Innere Krankheiten der Haustiere.
Band II: Funktionelle Störungen. 1. Auflage.
Stuttgart, Gustav Fischer Verlag
- ROVICS, J. J. und ELY, C. M. (1962)
Response of Beef Cattle to Enzyme Supplements.
J Anim Sci **21**(4): 1012
- ROYAL, M. D.; DARWASH, A. O.; FLINT, A. P. E.; WEBB, R.; WOOLLIAMS, J. A. und
LAMMING, G. E. (2000)
Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of
fertility.
Anim Sci **70**: 487-501
- RUST, J. W.; JACOBSON, N. L.; MCGILLIA.AD und HOTCHKIS.DK (1965)
Supplementation of Dairy Calf Diets with Enzymes .2. Effect on Nutrient Utilization
and on Composition of Rumen Fluid.
J Anim Sci **24**(1): 156
- SATTLER, T. und FÜRLL, M. (2002)
Labordiagnostische Bedeutung der Creatinkinase und der Aspartat-Amino-
Transferase bei Kühen mit Labmagenverlagerung und Endometritis.
In: Stoffwechselstörungen bei Wiederkäuern: Erkennen-Behandeln-Vorbeugen.
M. Fürll (Hrsg.), Med Tierklinik Leipzig: 55-57

- SCHINGOETHE, D. J.; STEGEMAN, G. A. und TREACHER, R. J. (1999)
Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding.
J Dairy Sci **82**(5): 996-1003
- SCHOLZ, H. (1990)
Stoffwechselkontrolle in der Milchkuhherde an Hand von Blut- und Milchparametern.
Prakt Tierarzt Coll Vet XXI **72**: 32-35
- SCHROEDER, U. J. (2000)
Untersuchungen zur Konditionsbeurteilung mittels ultrasonographischer Messung der Rückenfettdicke als Grundlage zur Anwendung in der Bestandsbetreuung von Milchviehherden.
Freie Universität Berlin, Dissertation med.vet.
- SCHROEDER, U. J. und STAUFENBIEL, R. (2006)
Methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness.
J Dairy Sci **89**(1): 1-14
- SHELDON, M. (2004)
The postpartum uterus.
Vet Clin North Am Food Anim Pract **20**(3): 569
- SHEPERD, A. C. und KUNG, L. (1994)
Composition, rumen fermentation and digestibility of enzyme treated corn silages.
J Anim Sci **72** (Suppl. 2): 125 (Abstr.)
- SIMON, O.; HÜBENER, K.; BECKMANN, L. und VAHJEN, W. (2002)
Einfluss von Xylanasen auf die Darmflora.
In: Aktuelle Themen der Tierernährung und Veredelungswirtschaft.
Vortrag auf der wissenschaftlichen Tagung vom 21. und 22. November 2001 im Hotel Seepavillon, Cuxhaven,
Lohmann Animal Health GmbH&Co. KG, Heinz-Lohmann-Str. 4, 27472 Cuxhaven:
68-80
- SOBIRAJ, A. (2001)
Hämatologische Verlaufsuntersuchungen bei Rindern intra- und postpartum.
Tierärztl Praxis **29**: 339-344
- SOBIRAJ, A. (2005)
Management zur Sicherung der Eutergesundheit.
In: 3. Leipziger Tierärztekongress, Vortrag
Leipzig, Jan. 2005
- STAUFENBIEL, R. (1993)
Energie- und Fettstoffwechsel des Rindes unter besonderer Berücksichtigung der Messung der Rückenfettdicke und der Untersuchung von Fettgewebe
Freie Universität Berlin, Habilschr. med. vet.
- STAUFENBIEL, R. (1997)
Evaluation of body condition in dairy cows by ultrasonographic measurement of back fat thickness.
Prakt Tierarzt **78**: 87-92
- STAUFENBIEL, R. (1998)
Ansätze zur Prophylaxe der Labmagenverlagerung.
In: Internationaler Workshop Leipzig, Leipziger Universitätsverlag

- STAUFENBIEL, R. (2001)
Sind unsere Hochleistungskühe noch gesund? Eine kritische Betrachtung am Beispiel der Ketose.
Milchpraxis Heft **2**: 46-49
- STAUFENBIEL, R. (2002)
Gebärparese des Rindes-neue Aspekte zum klinischen Bild und zur Therapie;
In: BPT-Kongress Nürnberg, Vortragszusammenfassungen: 61-66
- STAUFENBIEL, R. (2005)
Aktuelle Aspekte zur Klinik, Diagnostik, Differentialdiagnostik, Therapie und Prophylaxe der Gebärparese der Milchkuh (Vortrag).
In: Erfahrungsaustausch Boehringer Ingelheim, Mellingen, Nov. 2005
- STAUFENBIEL, R. und SCHRÖDER, U. J. (2004)
Körperkonditionsbeurteilung durch Ultraschallmessung der Rückenfettdicke.
Methodische Grundlagen.
Nutztierspiegel **2**: 149-155
- STEEN, P. (2001)
Liquid application systems for feed enzymes.
In: Enzymes in Farm Animal Nutrition.
G. G. Partridge und M.R. Bedford (Hrsg.)
Wallingford, CABI Publishing: 353-376
- STEENFELDT, S. (2003)
Wheat quality-a continuing important issue in poultry nutrition-results from broiler studies in Denmark.
In: Proceedings 14th European Symposium on Poultry Nutrition.
Lillehammer, Norway, 10-14. August 2003: 1-9
- STEINWIDDER, A. und WURM, K. (2005)
Milchviehfütterung-Tier-und leistungsgerecht
Graz, Österreich: Leopold Stocker Verlag
- STEVENS, J. B. und OLSON, W. G. (1984)
Free Fatty Acid-Induced Hypocalcemia in Food-Deprived Dairy-Cattle.
Am J Vet Res **45**(11): 2448-2450
- STOKES, M. R. (1992)
Effects of an Enzyme Mixture, an Inoculant, and Their Interaction on Silage Fermentation and Dairy Production.
J Dairy Sci **75**(3): 764-773
- SUTTON, J. D.; PHIPPS, R. H.; BEEVER, D. E.; HUMPHRIES, D. J.; HARTNELL, G. F.; VICINI, J. L. und 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**(2): 546-556
- SUTTON, J. D.; PHIPPS, R. H.; DEAVILLE, E. R.; JONES, A. K. und HUMPHRIES, D. J. (2002)
Whole-crop wheat for dairy cows: effects of crop maturity, a silage inoculant and an enzyme added before feeding on food intake and digestibility and milk production.
Anim Sci **74**: 307-318

- SZASZ, J. I.; HUNT, C. W.; JOHNSON, K. A.; MICHAL, J. J. und CONRAD, D. J. (2003)
Use of exogenous fibrolytic enzymes and bluegrass seed straw in wintering beef cow feeding regimes.
J Anim Sci **81** (Suppl. 1): 211 (Abstr.)
- TAYLOR, V. J.; CHENG, Z.; PUSHPAKUMARA, P. G. A.; BEEVER, D. E. und WATHES, D. C. (2004)
Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield.
Vet Rec **155** (19): 583-588
- THEANDER, O.; WESTERLUND, E.; AMAN, P. und GRAHAM, H. (1989)
Plant-Cell Walls and Monogastric Diets.
Anim Feed Sci and Technol **23**(1-3): 205-225
- THEURER, B.; BURROUGHS, W. und WOODS, W. (1963)
Influence of Enzyme Supplements in Lamb Fattening Rations.
J Anim Sci **22**(1): 150
- THOMSEN, P. T. und HOUE, H. (2006)
Dairy cow mortality. A review.
Vet Q **28**(4): 122-9
- TIRADO-ESTRADA, G.; MEJIA, -. H., I.; CRUZ-VAZQUEZ, C. R.; MENDOZA-MARTINEZ, G. D.; TOVAR-LUNA, I. und FAJARDO-PEA, J. (2001)
Effects of exogenous enzymes on fiber degradation of corn stalks.
J Anim Sci **79** (Suppl. 1): 283 (Abstr.)
- TITI, H. H. (2003)
Evaluation of feeding a fibrolytic enzyme to lactating dairy cows on their lactational performance during early lactation.
Asian-Australas J Anim Sci **16**(5): 677-684
- TITI, H. H. und TABBAA, M. J. (2004)
Efficacy of exogenous cellulase on digestibility in lambs and growth of dairy calves.
Livest Prod Sci **87**(2-3): 207-214
- TRICARICO, J. M.; ABNEY, M. D.; GALYEAN, M. L.; RIVERA, J. D.; HANSON, K. C.; MCLEOD, K. R. und HARMON, D. L. (2007)
Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle.
J Anim Sci **85**(3): 802-11
- TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D. und DAWSON, K. A. (2002)
The influence of low concentrations of supplemental enzymes on ruminal fermentation and milk production.
J Anim Sci **80** (Suppl. 1): 105 (Abstr.)
- TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D.; DAWSON, K. A.; HANSON, K. C.; MCLEOD, K. R. und HARMON, D. L. (2005)
The effects of an *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on ruminal fermentation and milk production in lactating Holstein cows.
Anim Sci **81**: 365-374
- VAN DE VYVER, W. F. J.; DAWSON, K. A.; CASEY, N. H. und TRICARICO, J. M. (2004)
Effect of glycosylation on the stability of fungal xylanase exposed to proteases or rumen fluid in vitro.
Anim Feed Sci Technol **116**(3-4): 259-269

- VAN DEN TOP, A. M.; VAN TOL, A.; JANSEN, H.; GEELEN, M. J. und BEYNEN, A. C. (2005)
Fatty liver in dairy cows post partum is associated with decreased concentration of plasma triacylglycerols and decreased activity of lipoprotein lipase in adipocytes.
J Dairy Res **72**(2):129-137
- VAN SOEST, P. J. (1994)
Nutritional ecology of the ruminant.
Ithaca, New York: Cornell University Press
- VAN WALLEGHEM, P. A.; AMMERMANN, C. B.; CHICCO, C. F.; MOORE, J. E. und ARRINGTON, L. R. (1964)
Enzyme supplements and digestibility of protein and energy in rations high in dried up citrus pulp.
J Anim Sci **23**: 960-962
- VANVUUREN, A. M.; BERGSMA, K.; FROLKRAMER, F. und VANBEERS, J. A. C. (1989)
Effects of Addition of Cell-Wall Degrading Enzymes on the Chemical-Composition and the Insacco Degradation of Grass-Silage.
Grass and Forage Science **44**(2): 223-230
- VICINI, J. L.; BATEMAN, H. G.; BHAT, M. K.; CLARK, J. H.; ERDMAN, R. A.; PHIPPS, R. H.; VAN AMBURGH, M. E.; HARTNELL, G. F.; HINTZ, R. L. und HARD, D. L. (2003)
Effect of feeding supplemental fibrolytic enzymes or soluble sugars with malic acid on milk production.
J Dairy Sci **86**(2): 576-85
- VOIGT, J.; GAAFAR, K.; KANITZ, W.; PRECHT, D.; BECKER, F.; SCHNEIDER, F.; SPITSCHAK, M.; SCHONHUSEN, U.; JUNGHANS, P.; ASCHENBACH, J. R. und GABEL, G. (2005)
Utilization of glucose and long-chain fatty acids in lactating dairy cows fed a fat enriched diet.
Dtsch Tierarztl Wochenschr **112**(11): 423-425
- WADE, G. N. und JONES, J. E. (2004)
Neuroendocrinology of nutritional infertility.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **287**(6): R1277-R1296
- WALKER, L. P. und WILSON, D. B. (1991)
Enzymatic-Hydrolysis of Cellulose - an Overview.
Bioresour Technol **36**(1): 3-14
- WALLACE, R. J.; WALLACE, S. J. A.; MCKAIN, N.; NSEREKO, V. L. und HARTNELL, 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**(7): 1905-1916
- WANG, Y. und MCALLISTER, T. A. (2002)
Rumen microbes, enzymes and feed digestion - A review.
Asian-Australas J Anim Sci **15**(11): 1659-1676

- WANG, Y.; MCALLISTER, T. A.; BAAH, J.; WILDE, R.; BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; SHELFORD, J. A.; KAMANDE, G. M. und CHENG, K. J. (2003)
Effects of Tween 80 on in vitro fermentation of silages and interactive effects of Tween 80, monensin and exogenous fibrolytic enzymes on growth performance by feedlot cattle.
Asian-Australas J Anim Sci **16**(7): 968-978
- WANG, Y.; MCALLISTER, T. A.; RODE, L. M.; BEAUCHEMIN, K. A.; MORGAVI, D. P.; NSEREKO, V. L.; IWAASA, A. D. und YANG, W. (2001a)
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**(3): 325-32
- WANG, Y.; MCALLISTER, T. A.; RODE, L. M.; BEAUCHEMIN, K. A.; MORGAVI, D. P.; NSEREKO, V. L.; IWAASA, A. D. und YANG, W. (2002)
Effects of exogenous fibrolytic enzymes on epiphytic microbial populations and in vitro digestion of silage.
J Sci Food Agric (**82**): 760-768
- WANG, Y.; MCALLISTER, T. A.; YANKE, L. J.; BEAUCHEMIN, K. A.; MORGAVI, D. P.; RODE, L. M. und YANG, W. (2001b)
Effect of exogenous fibrolytic enzymes on the digestion of alfalfa hay and barley straw by cellulolytic ruminal bacteria.
J Anim Sci **79** (Suppl. 1): 285 (Abstr.)
- WANG, Y.; SPRATLING, B. M.; ZOBELL, D. R.; WIEDMEIER, R. D. und MCALLISTER, T. A. (2004)
Effect of alkali pretreatment of wheat straw on the efficacy of exogenous fibrolytic enzymes.
J Anim Sci **82**(1): 198-208
- WEIMER, P. J. (1998)
Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective.
J Anim Sci **76**(12): 3114-22
- WEIMER, P. J.; FRENCH, A. D. und CALAMARI, T. A. (1991)
Differential Fermentation of Cellulose Allomorphs by Ruminal Cellulolytic Bacteria.
Appl Environ Microbiol **57**(11): 3101-3106
- WENK, C. (2001)
The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig.
Anim Feed Sci Technol **90**(1-2): 21-33
- WENK, C. und ZURCHER, U. (1990)
Energy-Utilization of Fibrous by-Products of the Milling and Food-Industry in Pigs.
Arch Tierernahr **40**(5-6): 423-430
- WESTWOOD, C. T.; LEAN, I. J. und GARVIN, J. K. (2002)
Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: A multivariate description.
J Dairy Sci **85**(12): 3225-3237
- WHITE, B. A.; MACKIE, R. I. und DOERNER, K. C. (1993)
Enzymatic hydrolysis of forage cell walls.
In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility.
H.G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield und J. Ralph (Hrsg.)
Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc.
Crop Science Society of America, Inc.
Soil Science Society of America, Inc.: 455-484

- WILSON, J. R. (1993)
Organization of forage plant tissues.
In: Forage Cell Wall Structure and Digestibility.
H. G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield und J. Ralph (Hrsg.)
Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc.
Crop Science Society of America, Inc.
Soil Science Society of America, Inc.: 1-32
- WITTEK, T. und FURLL, M. (2002)
Assessment of body condition and abdominal fat in relation to fat mobilisation in cows suffering from abomasal displacement.
Tierarztl Umsch **57**(6): 302
- WOOD, T. M. und BHAT, K. M. (1988)
Methods for Measuring Cellulase Activities.
Meth Enzymol **160**: 87-112
- YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. und RODE, L. M. (1999)
Effects of an enzyme feed additive on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows.
J Dairy Sci **82**(2): 391-403
- YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. und RODE, L. M. (2000)
A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets.
J Dairy Sci **83**(11): 2512-2520
- YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. und RODE, L. M. (2001)
Altering ruminal microbial colonization and synthesis by manipulation of dietary factors.
J Anim Sci **79** (Suppl. 1): 287 (Abstr.)
- YANKE, L. J.; DONG, Y.; MCALLISTER, T. A.; BAE, H. D. und CHENG, K. J. (1993)
Comparison of Amylolytic and Proteolytic Activities of Ruminal Fungi Grown on Cereal-Grains.
Can J Microbiol **39**(8): 817-820
- YU, P.; MCKINNON, J. J.; MAENZ, D. D.; RACZ, V. J. und CHRISTENSEN, D. A. (2001)
Enzymic release of reducing sugars from oat hulls by cellulase, as influenced by a synergistic interaction between *Aspergillus* ferulic acid esterase and *Trichoderma* xylanase.
J Anim Sci **79** (Suppl. 1): 282 (Abstr.)
- ZHENG, W.; SCHINGOETHE, D. J.; STEGEMAN, G. A.; HIPPEN, A. R. und TREACHER, R. J. (2000)
Determination of when during the lactation cycle to start feeding a cellulase and xylanase enzyme mixture to dairy cows.
J Dairy Sci **83**(10): 2319-2325
- ZOBELL, D. R.; WIEDMEIER, R. D.; OLSON, K. C. und TREACHER, R. (2000)
The effect of an exogenous enzyme treatment on production and carcass characteristics of growing and finishing steers.
Anim Feed Sci Technol **87**(3-4): 279-285

Danksagung

Ich möchte mich schließlich bei einigen Kolleginnen und Kollegen, bei meinen Freunden und bei meiner Familie bedanken.

Als erstes möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn **Prof. Dr. Holger Martens** für die Überlassung des interessanten Arbeitsthemas, die persönliche und intensive Betreuung, das Einführen der „5 € Strafeinzahlung“ in die Kaffeekasse bei Anrede mit dem Titel „Professor“ und die weitere engagierte Zusammenarbeit bedanken.

Herrn **Dr. Wolfgang Steinberg** und Frau **Dr. Elisabeth Azem** von der Fa. *DSM Nutritional Products* möchte ich für die gute Zusammenarbeit danken: Ohne Ihre finanzielle Unterstützung wäre diese Arbeit nicht zu Stande gekommen, und die gemeinsamen Gespräche waren stets konstruktiv und ermutigend.

Frau **Vibe Glitsø, Ph.D.**, und Herrn **Morten Fischer, Ph.D.**, (Fa. *Novozymes*): Thanks a lot for your support and the encouraging discussions! You really created a nice and constructive atmosphere throughout all the meetings in Schwabhausen and Berlin.

Frau **Dr. Anna Kosmol** und Herrn **Hendrik Eismann**: *Vielen Dank* für die gemeinsame Zeit auf der Milchviehanlage, den erfolgreichen Kampf gegen widerspenstige Jungkühe und ähnliche unvergessene Höhepunkte wie die Besuche im Freizeitzentrum „Burger King“ in Schwabhausen .

Folgenden Kolleginnen und Kollegen aus dem Institut für Veterinär-Physiologie möchte ich „Danke“ sagen:

Frau **Isabel Dittmann (BHMW)**: Für die gemeinsamen Spaziergänge mit „Buffy“ und „Shiva“...Danke für Alles!

Herrn **Gerhard Zechner**: Für das Teilen des Büros, den österreichischen Humor und die zuverlässige Verpflegung meines Hundes. „Buffy“ wird Dich ganz bestimmt vermissen!

Frau **Lisa Bachmann**: Für Deine Hilfe bei Problemen mit SPSS, Excel und allgemeinen Fragen zur Statistik sowie für die Beantwortung der Frage, wieso ich kochen lernen sollte.

Für ihre kompetente, engagierte und stets freundliche Hilfe in Sachen Promotion und statistischer Auswertung möchte ich ganz herzlich bei Frau **Dr. Friederike Stumpf** bedanken.

Danksagung

Für ihre geduldige Hilfe bei der statistischen Auswertung und die überaus lehrreichen Gespräche möchte ich mich bei Frau **Dr. Gisela Arndt** aus dem Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung bedanken.

Ein besonderes „*Danke schön*“ an meinen Lehrer in Sachen Buiatrik:

Herrn **Dr. Lothar Jäkel**: Für Ihre permanente Hilfe und Unterstützung bei der praktischen Arbeit auf der Milchviehanlage, für Ihre Ermutigungen durchzuhalten, den Versuch, meinen beruflichen Werdegang positiv zu beeinflussen sowie für Ihre Bereitschaft, Ihr Wissen zu teilen und Fähigkeiten weiterzugeben. Ich hätte Sie gern in der Lehre der Universität erlebt!

Außerdem möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Milchviehanlage Schwabhausen GbR- insbesondere bei Herrn **Arnold Becker**, Herrn **Günther Seever** und Frau **Gudrun Lehmann** für ihre Unterstützung bedanken.

Für die zusätzlich notwendigen Programmierungsarbeiten am Betriebsverwaltungsprogramm „*Herde*“ und die anschaulichen Hilfestellungen zur Nutzung der BSK bedanke ich mich bei Herrn **Timo Leimbach**. Ohne Sie wäre die Daten-Flut kaum zu bewältigen gewesen.

Bei Herrn **Michael Feske** möchte ich mich für das Lösen zahlreicher Computerprobleme bedanken (und ja, eine Formatvorlage macht Sinn).

Für die Analyse der zahlreichen Blutproben danke ich Herrn **Prof. Dr. Manfred Fürll** und seinem Team der Medizinischen Tierklinik der Universität Leipzig, insbesondere Frau **Dr. Antje Meister**.

Das größte „*Danke Schön*“ gilt meiner Familie: „*Den besten Eltern der Welt*“ **Josef und Irmgard Wenning** sowie meiner Schwester **Claudia**.

Vielen Dank!

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 13.05.2008

Peter Wenning