

Zum Proteinschutzpotential sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe in alternativen Futterleguminosen und Wiesenkräutern

Hamacher, M.¹, Loges, R.¹ und Taube, F.¹

Keywords: Kondensierte Tannine, Gesamtphenole, Proteinabbau, Leguminosen

Abstract

*Amounts of rapidly rumen degradable protein in forage plants breed to a lower N-Use-Efficiency (NUE). Secondary plant metabolites, like tannins are able to protect forage protein against inefficient ruminal degradation. Feeding forage plants containing moderate concentrations of tannins may increase the sustainability in organic dairy production. This study was carried out to investigate the potential of several home-grown plants to bind forage protein and thus decrease ruminal N losses. A choice of six weeds and nine legumes were analyzed in terms of the composition of crude protein according to the Cornell Net Carbohydrate and Protein System, levels of condensed tannins (CT), total phenols (TP) and the ability to precipitate the model protein Bovines Serum Albumin (BSA). As it was expected sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) showed above-average CT- and TP-concentrations as well as high protein precipitation capacities (PPC). Across the entire spectrum of species, a positive correlation between the CT concentration and the PPC was observed ($p \leq 0,001$). Without any CT but highest TP concentration measured Salad Burnet (*Sanguisorba minor*) also showed protein precipitation capacities. This result indicates that CT concentration cannot be considered as the sole criterion for evaluating the protein binding capacity.*

Einleitung und Zielsetzung

Hohe Anteile an leicht abbaubarem Futterprotein führen in der ökologischen Milchviehfütterung zu N-Verlusten und einer schlechteren N-Verwertung. Kondensierte Tannine binden in Abhängigkeit des pH-Wertes Proteine reversibel und tragen so zu einer Erhöhung des Anteils an pansenstabilem Protein bei (Jones und Mangan 1977). Der Einsatz tanninhaltiger Futterpflanzen kann unerwünschte Belastungen des tierischen Stoffwechsels und negative Umweltwirkungen reduzieren, sowie zu einer Verbesserung der N-Nutzungseffizienz (NUE) beitragen. Neben dem tropischen Quebracho enthalten auch einheimische Futterleguminosen wie Esparsette und Hornklee kondensierte Tannine (Häring *et al.* 2008). Kräuter erhöhen nicht nur die Biodiversität, sondern enthalten ebenfalls phenolische Verbindungen. Ziel der Studie ist die Analyse des Proteinschutzpotentials eines breiten Spektrums alternativer Futterleguminosen und Wiesenkräuter, um Effekte auf den ruminalen Proteinabbau abzuschätzen.

Material und Methoden

¹ Christian-Albrechts Universität Kiel, Institut für Pflanzenbau und –züchtung, Grünland und Futterbau/Ökologischer Landbau, Hermann-Rodewald-Str. 9, 24118, Kiel, mhamacher@gfo.uni-kiel.de

Eine Auswahl von sechs Wiesenkräutern, Deutschem Weidelgras und zehn Futterleguminosen (Tab. 1) wurde 2009 als Untersaat in Sommergetreide auf dem ökologisch bewirtschafteten Versuchsgut „Lindhof“ (sL, Ø 40 Bodenpunkte) im Split-Plot-Design in drei Wiederholungen etabliert. Für die Futterqualitätsanalysen wurden gefriergetrocknete Proben des ersten Aufwuchses im ersten Hauptnutzungsjahr 2010 verwendet. Die Bestimmung der Stickstofffraktionen A, B1, B2, B3 und C erfolgte nach Licitra *et al.* (1996). Für die weiteren Analysen wurden 300 mg des gemahlenden Pflanzenmaterials in Aceton extrahiert. Der Gesamtphenolgehalt wurde colorimetrisch mit dem Folin-Ciocalteu-Ansatz nach Singleton und Rossi (1965) ermittelt. Der Gehalt an kondensierten Tanninen wurde mittels des Butanol-HCl-Ansatzes nach Terrill *et al.* (1992) bestimmt. Die Bestimmung des Vermögens der Pflanzenextrakte das Protein BSA zu fällen erfolgte modifiziert nach Osborne und McNeill (2001): BSA wurde entsprechend einer Zielkonzentration von 1,5 mg/ml in Natrium-Acetat-Puffer (pH = 5,0) gelöst. Pflanzenextrakt, Puffer und Aceton wurden in 1950 µl Ansätzen nach einer 15minütigen Ruhezeit bei 2400 x g zentrifugiert. Es folgte das Abpipettieren des Überstandes und Rücklösen der Pellets in 500 µl Acetat-Puffer ohne BSA-Zugabe. Die Bestimmung des Proteins in der Lösung erfolgte nach Bradford (1976).

Ergebnisse und Diskussion

Entsprechend den Erwartungen konnten für Esparsette und Hornschotenklee überdurchschnittliche Gehalte an kondensierten Tanninen gemessen werden. Alle weiteren Arten erzielten lediglich Gehalte zwischen 0,05 % und 0,3 % der TM (Tab. 1).

Tabelle 1: Durchschnittliche Gehalte an kondensierten Tanninen (CT), Gesamtphenolen (GP) und dem BSA-Fällungsvermögen der untersuchten Arten

Art	CT [% i. d. TM]	GP [% i. d. TM]	BSA-Fällungsvermögen [mg g PflanzenTM ⁻¹]
Kümmel	0,04 -	4,44	1,05 -
Dt. Weidelgras	0,04 -	1,58 -	0,03 -
Galega	0,05 -	3,98 -	1,09 -
Gelber Steinklee	0,06 -	1,59 -	2,15 -
Weißer Steinklee	0,06 -	1,67 -	0,98 -
Löwenzahn	0,07 -	3,54 -	2,81 -
Schafgarbe	0,07 -	9,45	0,99 -
Luzerne	0,08 -	1,37 -	0,41 -
Gelbklee	0,09 -	1,62 -	0,57 -
Zichorie	0,09 -	6,14	0,96 -
Weißklee	0,11 -	1,80 -	0,31 -
Rotklee	0,11 -	3,14	0,64 -
Schwedenklee	0,12 -	2,75 -	2,72 -
Kleiner Wiesenknopf	0,17 -	18,56 +	28,15 +
Spitzwegerich	0,30 -	6,61 +	2,01 -
Hornklee	1,93 +	4,80	18,62 +
Esparsette	8,39 +	10,33 +	125,44 +
Mittelwert	0,69	4,90	11,11

+/- Abweichungen vom Gesamtmittel signifikant für $P < 0,001$

Für die Kräuter konnten gegenüber den Leguminosen und Deutschem Weidelgras tendenziell höhere Gesamtphenolgehalte gezeigt werden. Ausnahmen bei den Leguminosen bilden Hornklee und Esparsette, deren Gesamtphenolgehalte, die der anderen Leguminosen ums doppelte bzw. fünffache überstiegen. Im Gegensatz zu Esparsette und Hornklee sind die deutlich hohen Phenolkonzentrationen von Schafgarbe, Spitzwegerich, Zichorie, Kümmel und Kleiner Wiesenknopf nicht auf ebenso hohe CT-Konzentrationen zurückzuführen.

Unter gegebenen Versuchsbedingungen konnten für Esparsette, Hornklee und Kleinen Wiesenknopf nennenswerte Mengen an gefällttem BSA ermittelt werden. Über das gesamte Artenspektrum konnte ein positiver Zusammenhang zwischen der Konzentration an kondensierten Tanninen und dem BSA-Bindungsvermögen festgestellt werden ($R^2 = 0,93$, $p \leq 0,001$). Neben der CT-Konzentration beeinflussen die Größe und molekulare Zusammensetzung der Tannine das Bindungsvermögen (Mueller-Harvey 2006). Dies zeigt sich in den unterschiedlichen Verhältnissen der CT-Konzentration von Esparsette und Hornklee (4:1) und dem BSA-Fällungsvermögen beider Arten (8:1). Das Beispiel des Kleinen Wiesenknopfs zeigt jedoch, dass die CT-Konzentration nicht als alleiniges Kriterium zur Bewertung eines potentiellen Proteinschutzvermögens gelten kann.

Dem Kieler Versuch lag die Hypothese zu Grunde, dass für tanninhaltige Arten eine hinsichtlich der NUE günstigere Verteilung der Stickstofffraktionen (geringere Anteile Fraktion A zu Gunsten der Fraktionen B3 und C) zu erwarten ist.

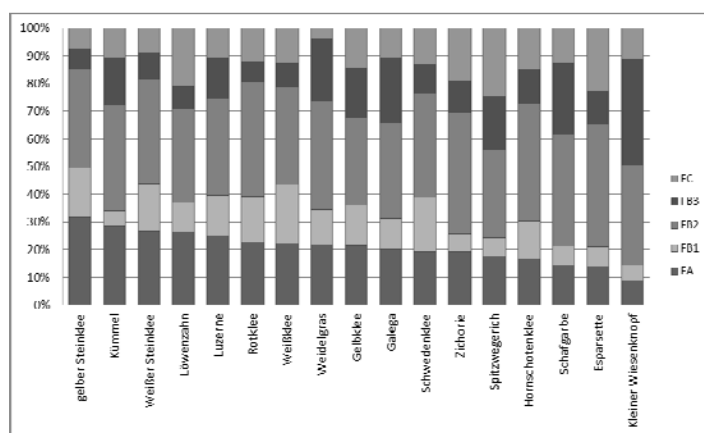


Abbildung 1: Verteilung der Stickstofffraktionen der untersuchten Arten

Im Hinblick auf die Menge des potentiell am Duodenum verfügbaren Stickstoffs ist der Kleine Wiesenknopf mit knapp 40 % Stickstoff in Fraktion B3 und lediglich 15 % leicht löslichem Stickstoff positiv hervorzuheben (Abb. 1). Für Esparsette konnten mit 20 % ähnlich geringe Anteile an leicht löslichem Stickstoff, sowie ein deutlich über dem Mittel liegender Anteil an Fraktion C-Stickstoff gesichert werden. Obwohl Fraktion C-Stickstoff dem Tier nicht zur Verfügung steht, ist ein erhöhter Anteil hinsichtlich einer Verschiebung der N-Exkretion und geringer Umweltwirkung des ausgeschiedenen Stickstoffs, sowie einer geringeren Belastung des tierischen Stoffwechsels positiv zu bewerten (Castillo et al., 2001; Reed, 2000). Hornklee zeigte im Vergleich zu Rot-

Weißklee und Luzerne eine günstigere Verteilung des Stickstoffs. Im Gegensatz zur ebenfalls tanninhaltigen Esparglette weist die Verteilung nicht auf einen Proteinschutzmechanismus der enthaltenen Tannine sondern auf eine höhere N-Verfügbarkeit und schnellere Abbauraten hin. Die geringere Konzentration und vermutete geringere Bindungskapazität der CT des Hornklees können als Erklärung herangezogen werden (Mueller-Harvey 2006).

Schlussfolgerungen

Unter norddeutschen Anbaubedingungen konnten für Esparglette und Hornschotenklee sowohl signifikante Anteile an kondensierten Tanninen, als auch ein entsprechendes BSA-Bindungsvermögen gezeigt werden. Ein Zusammenhang zur Verteilung der Stickstofffraktionen ist lediglich für Esparglette deutlich zu erkennen. Da Leguminosen mit unterdurchschnittlichen Gehalten an kondensierten Tanninen höhere Anteile an Fraktion A und B1 Stickstoff zeigten, ist davon auszugehen, dass das Vorkommen von kondensierten Tanninen hier einen Einfluss hat. Ebenso ist anzunehmen, dass der Effekt von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen auf die Verteilung der Stickstofffraktionen zwischen Arten stark variiert. Überraschendes Potential konnte für den Kleinen Wiesenknopf ausgemacht werden. Hier sind die für das BSA-Bindungsvermögen sowie die günstige Proteinverteilung verantwortlichen Verbindungen zu identifizieren.

Literatur

- Bradford, M. (1976): A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248–254.
- Castillo, A.R., Kebreab, E., Beever, D.E., Barbi, J.H., Sutton, J.D., Kirby, H.C. und J. France (2001): The effect of protein supplementation on nitrogen utilization in lactating cows fed grass silage diets. *Journal of Animal Science* 79 (1): 247-253.
- Häring, D., Scharenberg, A., Heckendorn, F., Dohme, F., Lüscher, A., Maurer, V., Suter, D. und H. Hertzberg (2008): Tanniferous forage plants: Agronomic performance, palatability and efficacy against parasitic nematodes in sheep. *Renewable Agriculture and Food Systems* 23: 19-29.
- Jones, W. T. und Mangan, J. L. (1977): Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia scop.*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 28: 126–136.
- Licitra, G.; Hernandez, T.M. und P.J. Van Soest (1996): Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57: 347-358.
- Mueller-Harvey, I. (2006): Unraveling the conundrum of tannins in animal and nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 2010-2037.
- Osborne, N. und McNeill, D. (2001): Characterisation of *Leucaena* condensed tannins by size and protein precipitation capacity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 1113-1119.
- Reed, J.D., Krueger, C., Rodriguez, G. und J. Hanson (1994): Secondary plant compounds and forage evaluation. In: Givens, D.I. (Hrsg.): *Forage evaluation in ruminant nutrition*. CABI Pub. New York: 433-449.
- Singelton, V. und Rossi, J. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology & Viticulture* 16: 144-158.
- Terrill, T. H., Rowan, A. M., Douglas, G. B. & T. N. Barry (1992): Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 58: 321-329.