

Schätzung der nXP-Gehalte in Futterleguminosen und Wiesenkräutern mittels modifiziertem Hohenheimer Futterwerttest – unter besonderer Beachtung der Gehalte an Tanninen und Gesamtphenolen

M. Hamacher¹, R. Loges¹, R. Blank², S. Wolfram² und F. Taube¹

¹ Christian-Albrechts Universität zu Kiel, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Grünland und Futterbau/Ökologischer Landbau

² Christian-Albrechts Universität zu Kiel, Institut für Tierernährung und Stoffwechselphysiologie, Hermann-Rodewald-Straße 9, 24118 Kiel

mhamacher@gfo.uni-kiel.de

Einleitung und Problemstellung

Hinsichtlich einer nachhaltigen Milchproduktion stellen Grünland- und Kleeerasaufwüchse in Deutschland eine wichtige Proteinquelle dar. Um das Potential von Grünlandaufwüchsen in der Wiederkäuerernährung auszuschöpfen ist neben dem Rohproteingehalt (XP) auf die Proteinqualität zu achten. Gerade proteinreiche Leguminosen wie Weißklee sind durch hohe ruminale Proteinabbauraten gekennzeichnet. Ein paralleler Mangel an ruminal verfügbarer Energie führt zu energieaufwendiger N-Exkretion über den Harn, N-Verlusten in die Umwelt, sowie Stoffwechsel- und Leberbelastungen bis zu Fruchtbarkeitsstörungen beim Tier. Tanninhaltige Futterpflanzen wie Esparsette oder Hornklee können in gewünschter Weise auf den ruminalen Proteinabbau einwirken und die tierische Leistung verbessern (SCHARENBERG ET AL., 2005; HEDQVIST ET AL., 2000). Ihre Fähigkeit Protein pH-abhängig reversibel zu binden wird als Ursache gesehen. Für weitere sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, insbesondere Nicht-Tannin-Phenole sind ebenfalls positive Effekte auf die ruminale Fermentation bekannt (JAYANAGERA ET AL., 2011).

Ziel der vorgestellten Untersuchung verschiedener kleinsamiger Leguminosen und Wiesenkräuter ist die Identifikation von Arten mit relevanten Konzentrationen an entsprechenden sekundären Inhaltsstoffen. Zur Beurteilung der Proteinqualität der Arten erfolgt die Analyse der mittels des modifizierten Hohenheimer Futterwerttests (moHF, STEINGASS & LEBERL, 2008) bestimmtem am Duodenum verfügbaren Proteins (nXP).

Material und Methoden

Das untersuchte Pflanzenmaterial stammt aus einem zweijährigen Feldversuch auf dem Versuchsgut Lindhof der CAU Kiel im Östlichen Hügelland Schleswig-Holsteins (Ø 40 BP). Die Bestände (Reinsaat) wurden als Untersaat im Vorjahr in drei Wiederholungen etabliert. Die Beerntung erfolgte in 4-Schnittnutzung. Die vorgestellten Ergebnisse basieren auf gefriergetrocknetem Material von 16 Arten (Tab. 1), beerntet zum ersten Aufwuchs im ersten Hauptnutzungsjahr 2013.

Zur Charakterisierung der Arten hinsichtlich ihrer Gehalte an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen erfolgte die kolorimetrische Bestimmung der kondensierten Tannine (CT) mittels der Butanol-HCl-Methode (Terrill et al., 1992) sowie die Messung der Gesamtphenole (GP) mittels des Folin-Ciocalteu-Ansatzes. Anschließend wurde anhand der Fällung des Modellproteins BSA die Fähigkeit der Pflanzenextrakte zugesetztes Protein zu binden erfasst (modifiziert nach Osborne & McNeill, 2001). Die Gehalte an XP, ADF und NDF wurden gestützt auf Nahinfrarotspektroskopie bestimmt.

Tabelle 1: Übersicht der untersuchten Arten: Leguminosen, Kräuter und Gras

Leguminosen		Kräuter und Gras	
Espartette	<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	Kümmel	<i>Carum carvi</i> L.
Gelbkleee	<i>Medicago lupulina</i> L.	Löwenzahn	<i>Taraxacum officinale</i> Wiggers
Hornkleee	<i>Lotus corniculatus</i> L.	Schafgarbe	<i>Achillea millefolium</i> L.
Luzerne	<i>Medicago sativa</i> L.	Spitzwegerich	<i>Plantago lanceolata</i> L.
Rotkleee	<i>Trifolium pratense</i> L.	Kleiner Wiesenknopf	<i>Sanguisorba minor</i> Scop.
Schwedenkleee	<i>Trifolium hybridum</i> L.	Zichorie	<i>Cichorium intybus</i> L.
Steinklee	<i>Melilotus officinalis</i> L.		
Sumpfhornkleee	<i>Lotus pedunculatus</i> Cav.	Dt. Weidelgras	<i>Lolium perenne</i> L.
Weißkleee	<i>Trifolium repens</i> L.		

Zur Abschätzung der nXP-Gehalte wurden jeweils 130mg Pflanzenmaterial im moHFT inkubiert (je Probe drei Wiederholungen in zwei Durchgängen). Zur Überprüfung der Ergebnisse wurde nXP-Standard mitgeführt. Unter der Annahme, dass der ruminale Abbau des untersuchten Materials eine 24-stündige Inkubationszeit überschreitet, wurden Inkubationszeiten von 8 und 48 Stunden gewählt (EDMUNDS ET AL., 2012). Im Anschluss erfolgte die Bestimmung der Ammoniakgehalte durch Destillation der Inkubationsrückstände. Anhand der absoluten nXP-Werte (8 und 48 Stunden) konnten aus der linearen Regression zwischen diesen gegen den Logarithmus der Zeit effektive nXP-Werte für Passageraten (PR) von 4, 6 und 8% berechnet werden.

Die statistische Auswertung erfolgte mit einem gemischten Model in der Statistiksoftware R. Im Anschluss an die Varianzanalyse (Art als fixer Faktor) wurde gegen das Gesamtmittel aller Arten getestet (GrandMean-Test). So konnten aus dem Artenpool in Bezug auf die untersuchten Parameter, Arten mit signifikant abweichendem Verhalten identifiziert werden. Zusätzlich wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Für alle untersuchten Parameter (Tab. 2 und 3) war der Einfluss der Art signifikant ($p < 0,0001$). Wie in SCHARENBERG ET AL. (2005) und HEDQVIST ET AL. (2000) zeigten Espartette, Hornkleee und Sumpfhornkleee gegenüber dem Mittel aller Arten signifikant hohe CT-Konzentrationen und entsprechend der Fähigkeit von Tanninen Protein zu binden ebenfalls ein signifikant höheres BSA-Fällungsvermögen (Tab. 2). Über alle Arten korreliert die CT-Konzentration signifikant mit dem BSA-Fällungsvermögen ($r = 0,97$).

Für die Kräuter konnten gegenüber Dt. Weidelgras und den Leguminosen (ausgenommen der drei CT-haltigen Arten) höhere GP-Gehalte ermittelt werden. Höchste GP-Konzentrationen konnten mit 20% in der TM für den Kleinen Wiesenknopf gemessen werden. Obwohl die enthaltenen 0,82% CT im Vergleich zu den CT-reichen Leguminosen als gering zu betrachten sind, deutet das über dem Mittel liegende BSA-Fällungsvermögen auf ein Potential der letztgenannten Art hinsichtlich eines möglichen Schutzes von Futterprotein vor dem ruminalen Abbau hin. Im Folgenden soll überprüft werden, ob Arten mit erhöhten CT-Konzentrationen und/oder einem auffälligem BSA-Bindungsvermögen auch bessere nXP-Werte aufweisen.

Wie angenommen entspricht das Ranking der Arten nach den XP-Gehalten nicht der Reihenfolge hinsichtlich der ermittelten nXP-Werte. Weiterhin sind Unterschiede im Ranking der Arten zwischen den verschiedenen Passageraten festzuhalten. Für Espartette, Hornkleee, Rotkleee, Schwedenkleee, Sumpfhornkleee und Weißkleee konnten bei allen Passageraten höhere nXP-Werte gegenüber dem Mittel aller Arten gezeigt werden (Tab. 3).

Tabelle 2: Mittlere CT- und GP-Konzentrationen, das BSA-Fällungsvermögen, signifikante Abweichung vom Gesamtmittelwert aller Arten (***) p<0,0001; ** p<0,001; * p<0,05), fett: oberhalb des Mittels liegender Wert

Art	CT		GP		BSA-Fällungsvermögen mg gPflanzenTM ⁻¹
	% i. d. TM		% i. d. TM		
Dt. Weidelgras	0,1	**	1,5	***	0,4 ***
Esparsette	9,3	***	10,4	***	99,1 ***
Gelbklee	0,1	**	1,5	***	0,1 ***
Hornklee	4,0	***	6,6		53,7 ***
Kümmel	0,0	*	5,8		0,2 **
Löwenzahn	0,1	**	5,2		0,2 ***
Luzerne	0,1	**	1,2	***	0,1 ***
Rotklee	0,5	*	3,4	*	11,0
Schafgarbe	0,1	**	12,1	***	1,0 ***
Schwedenklee	0,2	**	2,1	***	0,3 ***
Spitzwegerich	0,3	**	7,1		9,6
Steinklee	0,1	**	1,6	***	6,4 *
Sumpfhornklee	10,2	***	10,3	***	133,8 ***
Weißklee	0,1	**	2,2	***	1,9 ***
Kleiner Wiesenknopf	0,8		20,1	***	34,3
Zichorie	0,1	**	7,0		1,4 ***
Gesamtmittel	1,65		6,15		22,56

Tabelle 3: XP- und nXP-Gehalte für angenommene Passageraten von 8, 6 und 4 %, signifikante Abweichung vom Gesamtmittelwert aller Arten (***) p<0,0001; ** p<0,001; * p<0,05), fett: in gewünschter Richtung unter- bzw.- oberhalb des Mittels liegender Wert

	XP g/kg TM	nXP g/kg TM			Referenzwerte	
		8%PR	6%PR	4%PR	nXP g/kg TM (PR %)	
Dt. Weidelgras	65 ***	142 ***	128 ***	109 ***	151-142	DLG 1997
Esparsette	114 **	204	194 **	181 ***	132 (6%),139 (4%)	EDMUNDS ET AL. 2012
Gelbklee	174 *	178 **	165 **	147	224 (4,2%)	SCHARENBERG ET AL. 2005
Hornklee	210 ***	214 ***	198 ***	175 **	175 (4,2%)	SCHARENBERG ET AL. 2005
Kümmel	101 ***	165 ***	150 ***	130 ***		
Löwenzahn	101 ***	165 ***	145 ***	119 ***		
Luzerne	153	165	152	133	132	DLG 1997
Rotklee	171	241 ***	216 ***	180 ***	157(6%),136(4%)	EDMUNDS ET AL. 2012
Schafgarbe	130	157 ***	142 ***	120 ***	138	DLG 1997
Schwedenklee	213 ***	230 ***	222 ***	212 ***		
Spitzwegerich	94 ***	191	173	149		
Steinklee	188 ***	193	176	154		
Sumpfhornklee	195 ***	241 ***	229 ***	213 ***		
Weißklee	259 ***	273	242	198	172	DLG 1997
Kleiner Wiesenknopf	88 ***	173	178	184 **	194 (6%),168(4%)	EDMUNDS ET AL. 2012
Zichorie	90 ***	172 ***	153 ***	127 ***	170 (4,2%)	SCHARENBERG ET AL. 2005
Gesamtmittel	147	195	179	157		

Die für Schwedenklee, Sumpfhornklee und Esparsette bestimmten nXP-Werte bleiben mit abnehmender Passagerate vergleichsweise stabil, wohingegen Hornklee, Weißklee und Rotklee deutliche Abnahmen der nXP-Werte zeigen und entsprechend an Vorzüglichkeit im Ranking der Arten verlieren. EDMUNDS ET AL (2012) zeigten für Weißklee ebenfalls eine deutliche Abnahme der nXP-Werte von PR 4% zu PR 6%. Beste Übereinstimmung mit kalkulierten Werten konnte dort für eine angenommene Passagerate von 4% festgehalten werden. Die in der vorliegenden Untersuchung ermittelten Werte für Weiß- und Rotklee liegen auch bei einer Passagerate von 4% noch deutlich über den Literaturwerten (Tab. 3). Eine mögliche Erklärung sind die im Vergleich um 2% bzw. 4% höheren XP-Gehalte der beiden Arten. Im Gegensatz dazu lagen die für Dt. Weidelgras bestimmten nXP-Gehalte deutlich unterhalb der Literaturwerte. Eine mögliche Erklärung liefern die durch einen späten Schnitzeitpunkt und durch ungedüngte Bestände bedingten geringen XP-Gehalte. Gleiches gilt für die gegenüber SCHARENBERG ET AL. (2005) ermittelten geringeren Werte für Esparsette und Zichorie. Übereinstimmende Ergebnisse konnten für PR 4% bei Luzerne und Hornklee erzielt werden (Tab. 3). Die untersuchten Kräuter zeichneten sich generell durch unterdurchschnittliche XP- und nXP-Gehalte aus. Überraschend sind daher die mit Rotklee vergleichbaren hohen nXP-Werte des Kleinen Wiesenknopfs. Zudem zeigt diese Art entgegen der Erwartungen mit abnehmender Passagerate eine leichte Zunahme des nXPs. Es ist zu vermuten, dass der ruminale Abbau nach Ende der Inkubationszeit noch nicht abgeschlossen war und der nXP-Gehalt unabhängig von der Verweildauer im Pansen relativ stabil blieb.

Eine bessere Beurteilung des ruminalen N-Abbaus ermöglicht die Betrachtung der nXP-Werte (PR 4%) in Relation zu den Ausgangsproteingehalten. Für die signifikant überdurchschnittlichen Arten ergibt sich folgendes Ranking: Kleiner Wiesenknopf, Esparsette, Sumpfhornklee, Rotklee, Schwedenklee, Hornklee und Weißklee mit 217, 159, 110, 105, 103, 84 bzw. 76 g/100gXP. Im Zusammenhang mit den für Esparsette und Sumpfhornklee ermittelten CT-Konzentrationen und BSA-Fällungsvermögen stützen die Ergebnisse die Annahme, dass CT-Vorkommen den ruminale N-Abbau verringern. Für Hornklee deuten die Ergebnisse nicht auf diesen Zusammenhang hin. Aufgrund der ermittelten Werte des Kleinen Wiesenknopfs ist anzunehmen, dass Nicht-CT-Phenole den ruminale N-Abbau beeinflussen. Die signifikant überdurchschnittlichen NDF-Gehalte (437 g/kg TM i. Vgl. zu 386g/kg TM) dieser Art deuten zudem auf fasergebundenes Protein hin. Unterschiede zwischen Weiß- und Rotklee sind mit höheren NDF- und ADF-Gehalte im Rotklee (RK: 389 & 253 g/kg TM; WK: 324 & 190 g/kg TM) zu erklären.

Schlussfolgerungen

Ausgehend von den ermittelten XP- und nXP-Gehalten besitzen Sumpfhornklee, Schwedenklee, Weißklee, Rotklee und Hornklee Potential Grünlandaufwüchse hinsichtlich Proteinmenge und Qualität aufzuwerten. In Relation zu den Ausgangsproteingehalten sind die nXP-Gehalte von Kleinem Wiesenknopf, Esparsette, Sumpfhornklee, Rotklee und Schwedenklee als vorteilhaft zu bewerten. Für die ersten drei genannten Arten scheint ein Zusammenhang zwischen nXP und CT bzw. weiteren phenolischen Verbindungen zu bestehen. In wieweit der Proteinschutz durch diese Verbindungen die intestinale Proteinverdaulichkeit beeinflusst, wird derzeit in weiteren Versuchen untersucht. Um eine höhere Plausibilität der ermittelten nXP-Werte zu erreichen ist bei wenig untersuchten Arten der Abbau in situ zu überprüfen und entsprechend sind die Inkubationszeiten sowie die Auswahl der Passagerate anzupassen.

Danksagung

Erstellt mit freundlicher Unterstützung der Wilhelm-Schaumann-Stiftung.

Literatur

- DLG (1997): Futterwerttabellen Wiederkäuer, DLG-Verlag, Frankfurt am Main.
- EDMUNDS, B., SÜDEKUM, K.-H., SPIEKERS, H., SCHUSTER, M. & SCHWARZ, F.J. (2012): Estimating utilisable crude protein at the duodenum, a precursor to metabolisable protein for ruminants, from forages using a modified gas test. *Animal Feed Science and Technology*: 175, 106-113.
- HEDQVIST, H., MUELLER-HARVEY, I., REED, J. D., KRUEGER, C. & MURPHY, M. (2000): Characterisation of tannins and in vitro protein digestibility of several Lotus corniculatus varieties. *Animal Feed Science and Technology*: 87, 41-56.
- JAYANAGERA, A., MARQUARDT, M., KREUZER, M. & LEIBER, F. (2011): Nutrient and energy content, in vitro ruminal fermentation characteristics and methanogenic potential of alpine forage plant species during early summer. *J Sci Food Agric* 91: 1863–1870.
- OSBORNE, N. und MCNEILL, D. (2001): Characterisation of Leucaena condensed tannins by size and protein precipitation capacity. *J Sci Food Agric*: 81, 1113-1119.
- SCHARENBERG, A., ARRIGO, Y., SOLIVA, C., WYSS, U., KREUZER, M. & DOHME, F. (2005): Schätzung des Gehaltes an nutzbarem Rohprotein in drei Tanninhaltigen Futterpflanzen mit einem modifiziertem Hohenheimer Gastest. Schlüssel für eine effiziente Tierernährung. Tagungsbericht 13. Mai 2005, *Schriftenreihe aus dem Institut für Nutztierwissenschaften ETH Zürich*, Band 26, 122-125.
- STEINGASS, H. UND LEBERL, P. (2008): In Vitro Verfahren: Eine notwendige Ergänzung zur Nährstoffanalytik bei Futtermitteln. Übers. Tierernährung: 36, 31-46.
- TERRIL, T., ROWAN, A., DOUGLAS, G. & BARRY, T. (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.