

Einsatz von in-vitro Methoden in der Futterqualitätsanalyse - Bedeutung sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe für die Bestimmung der Proteinqualität

Martin Gierus^{1*}

Einleitung

Die Futterproduktion steht in Europa vor neuen Herausforderungen. Grenzen zum landwirtschaftbedingten Einfluss auf die Eutrophierung von Gewässern werden von der EU in der NITRATRICHTLINIE (91/676/EEC, 1991) und WASSERRAHMENRICHTLINIE (98/83/EC, 1998) vorgegeben. Die Richtlinien werden in den Mitgliedsstaaten in Abhängigkeit von der landwirtschaftlichen Nutzung der Flächen in nationale Gesetzgebung umgesetzt. In Deutschland sind die Richtlinien in der neuen Auflage der Düngeverordnung von 2007 geregelt (DüVO, 2007). Die DüVO sieht nach guter fachlicher Praxis einen N-Saldo von jährlich maximal 60 kg N/ha, der bis 2011 erreicht werden soll, vor. Es dürfen höchstens 170 kg N/ha aus wirtschaftseigenen Düngern tierischer Herkunft ausgebracht werden.

Durch die Ausdehnung der Biogasproduktion auf der Basis von Silomais und der damit induzierten Verknappung der Ackerflächen in den Futterbauregionen Norddeutschlands, steigt die relative Vorzüglichkeit des Grünlands für die Milchproduktion. Der Anteil an Ackerfutterbau, der für die Futterproduktion in Anspruch genommen wird, nimmt stetig zu. Der Ackerfutterbau erlaubt die Nutzung von Ackerflächen für 1 bis 3 Jahre. Diese Nutzung der landwirtschaftlichen Flächen ist für einige Regionen von großer Bedeutung um angemessene Erträge der Folgefrüchte zu erwirtschaften (SØEGAARD et al., 2007). In Bezug auf spezialisierte Milchviehfutterbaubetriebe ist daher eine Steigerung der effizienten N-Nutzung unabdingbar. Die Nutzung hochqualitativen Saatguts im Ackerfutterbau ermöglicht die Herstellung von hervorragendem Futter für die Hochleistungskuh. Zudem erlaubt der Wechsel zwischen Ackergras und Marktfrüchten im Ackerfutterbau einen Nährstoffaustausch zwischen Flächen, was eine effizientere Nährstoffverwertung in Abhängigkeit von der Bewirtschaftungsform zur Folge hat (KELM et al., 2004). Durch den verringerten Einsatz von mineralischem N in intensiven Grünlandregionen ist ein höherer Anteil an Futterleguminosen zu erwarten. Daraus lässt sich folgern, dass der Beitrag des Grundfutters an der Proteinversorgung von Milchkuhen zunehmen wird. Dabei ist eine effiziente N-Verwertung der Milchkuhe erstrebenswert, die aber eine auf die Leistung abgestimmte Fütterung voraussetzt. Besonders eine geringe N-Verwertungseffizienz, die durch hohe Proteinabbauraten im Pansen hervorgerufen wird, ist im Hinblick auf die N-Bilanzen der Betriebe im Rahmen

der Düngeverordnung als problematisch zu betrachten. Die Ermittlung der Futterqualität durch zuverlässige Qualitätsanalysen und –schätzungen ist daher eine grundlegende Voraussetzung für die leistungsgerechte Fütterung von Milchkühen und die Steigerung der N-Verwertungseffizienz im Milchvieh-Futterbaubetrieb.

Im Folgenden wird daher besonders die Erzeugung der sogenannten „home grown proteins“ in Europa mit hochqualitativer Proteinqualität, u.a. erzielt durch die Wechselwirkung mit sekundären Pflanzeninhaltsstoffen, betrachtet.

Bestimmung der Proteinqualität von Grundfutter – Einsatz von in vitro-Methoden

Futterpflanzen, wie Gras und Leguminosen sind wichtige Proteinträger in der Fütterung der Milchkuhe. Ihre Proteinqualität unterliegt ständigen Veränderungen, verursacht durch die Artenzusammensetzung, das Entwicklungsstadium zum Erntezeitpunkt, die Witterung und die Nutzungsintensität. Hier stoßen Angaben zur Proteinqualität und ihren Abbaueigenschaften in den Vormägen der Wiederkäuer an Grenzen. Unterschiedliche Arbeiten belegen einen positiven Einfluss auf die im Duodenum anflutende Menge an Nicht-Ammoniak-Stickstoff (NAN), wenn der UDP-Anteil als Prozent des Rohproteins in der Futterration ansteigt (SANTOS et al., 1998; VOLDEN, 1999). So konnte VOLDEN (1999) eine höhere Anflutung an Aminosäuren im Duodenum und geringere Ammoniakgehalte im Pansen beobachten, nachdem er hochleistenden Milchkuhen eine Ration mit hohem UDP-Anteil gefüttert hatte. In den meisten Arbeiten wird der für die Leistung notwendige UDP-Anteil in der Futterration durch den Einsatz von Kraftfutter realisiert. Im Kraftfutter (z.B. Sojaextraktionsschrot, Rapskuchen) lässt sich der UDP-Anteil durch physikalische (Hitze) oder chemische (Formaldehyd) Behandlungen teilweise steuern. Verfahren der Futterkonservierung (Silierung, Trocknung) können den UDP-Anteil im Grundfutter beeinflussen. Im Vergleich zur Futterkonservierung, gestaltet sich bei Beweidung die gezielte Steigerung des UDP-Anteils bei vergleichbarer Energiedichte als äußerst schwierig. Hier können z.B. tanninhaltige Futterpflanzen wie Hornklee oder Pflanzen mit einer hohen Aktivität des Enzyms Polyphenoloxidase, wie z.B. Rotklee, an einer effizienten N-Verwertung mitwirken.

¹ Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Grünland und Futterbau/Ökologischer Landbau - Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Hermann-Rodewald-Str.9, D-24118 Kiel

* Ansprechpartner: PD Dr. Martin Gierus, email: mgierus@email.uni-kiel.de

Weltweit hat sich zur Schätzung des UDP-Anteils am Rohprotein die Nylonsäckchenmethode (in situ-Methode) durchgesetzt. Trotz erheblicher Variationen zwischen Laboratorien (MADSEN und HVELPLUND, 1994; WILKERSON et al., 1995), wird diese Methode in den unterschiedlichen Proteinbewertungssystemen verwendet (ALDERMANN, 1995), zumal die meisten Systeme die Einschätzung der Futtermittel aufgrund seiner Anteile an abbaubarem und unabbaubarem Rohprotein als unabdingbar erkannt haben. Alternativ zur in situ-Methode stehen in vitro-Methoden zur Schätzung der Proteinabbaubarkeit zur Verfügung (CALSAMIGLIA et al., 2000; STEINGASS und LEBERL, 2008). In vitro-Methoden haben den Vorteil, dass gleichzeitig viele Proben analysiert werden können. Eine dieser Methoden ist die in vitro-Inhibitoren Methode (IIV), die bereits Ende der achtziger Jahre entwickelt wurde (BRODERICK et al., 1987). Die Methode beruht auf dem Prinzip, dass ein stickstoffarmes Inkubationsmedium mit Pansen und Pufferlösung durch einen Vorgärungsprozess mit Kohlenhydratüberschuss erzeugt wird. Nach der Zugabe der Futtermittelprobe ist der Proteinstickstoff in Abhängigkeit der Abbaubarkeit des Futtermittels eine nun wichtige Quelle für die enzymatische Aktivität der Pansenmikroben. Die Bildung von Ammoniak bzw. der Abbau der Proteine zu Aminosäuren oder kleineren Peptiden im Verlauf der Inkubationszeit geben Auskunft über die Abbaubarkeit des Proteins und ermöglichen somit eine Charakterisierung unterschiedlicher Futtermittel und die Berechnung des UDP-Anteils.

In *Tabelle 1* sind Ergebnisse einer Studie mit unterschiedlichen Futterpflanzen mit der genannten IIV Methode dargestellt (GIERUS et al., 2007). Trotz des höheren N-Gehaltes der Futterleguminosen, weisen sie keine höheren Abbauraten (in %/h) auf. Die bei den Futterleguminosen ermittelten Abbauraten stimmen mit Literaturangaben überein. Die in vitro-Methode erlaubt zudem die Schätzung von nXP-Gehalten bei unterschiedlicher Passagerate (4 und 8%/h) und bei neuartigen Futterleguminosen (Kaukasischer Klee und

Hornklee). Eine geringe Proteinabbaubarkeit bei Hornklee war nachweisbar, was vermutlich auf die Wirkung kondensierter Tannine zurückzuführen ist.

Einfluss sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe auf die Proteinqualität

Ein hoher Anteil an NPN-Verbindungen am Gesamtprotein-gehalt bzw. ein rascher Abbau des Proteins bei zeitgleicher unzureichender Menge an fermentierbarer organischer Masse im Pansen führt zu hohen N-Verlusten (BERG et al., 2000). Der Gehalt an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen einiger Futterleguminosen wie Hornklee und Rotklee wird mit geringeren Proteinabbauraten in Zusammenhang gebracht (JONES et al., 1995a, b; *Tabelle 1*). Daher ist für eine effizientere N-Verwertung beim Tier neben der Bestimmung der Proteinqualität von Futterpflanzen, die Bestimmung des Einflusses sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe auf den Proteinabbau im Pansen und/oder im Silo erforderlich. Die klassische Futterqualitätsbestimmung (Weende-Analyse, erweiterte Zellwandbestimmung nach Van SOEST) erfasst weder die Gehalte an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen, mit Ausnahme von Lignin, noch das Ausmaß ihrer Wirkung. Über den Einfluss kondensierter Tannine und der Polyphenoloxidase-Aktivität, sowie über die Wirkung von pflanzeneigenen Proteasen ist bisher wenig bekannt. Im Folgenden wird auf diese sekundären Pflanzeninhaltsstoffen und ihre Wirkung näher eingegangen.

Kondensierte Tannine

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe wie kondensierte Tannine bilden Komplexe mit Proteinen. Dadurch können sie den raschen Proteinabbau, die Aktivität von Mikroorganismen und Enzymen in den Vormägen von Wiederkäuern hemmen, und so zu einer verbesserten N-Verwertung des Tieres beitragen. Auch pflanzeneigene Proteasen, die einen raschen Abbau des Proteins induzieren und nach Beschädigung des Pflanzengewebes durch Verbiss oder Schnitt von Pflanzenzellen freigesetzt werden, können

Tabelle 1: Stickstoffgehalt, Proteinabbauraten, UDP-Gehalte und nXP-Schätzungen von verschiedenen Futterleguminosenarten, Deutschem Weidelgras und Silomais (Auszug aus Gierus et al., 2007)

	N, % TS	Abbau, %/h	UDP-4 ¹⁾ , %	UDP-8, %	nXP ²⁾ , g/kg TS		nXP ³⁾ , g/kg TS	nXP ⁴⁾ , g/kg TS
					4%	8%		
WK ⁵⁾	3,86 ^a	6,1 ^a	31,5 ^b	44,8 ^{bc}	194	217	191	172
RK	3,50 ^a	6,6 ^a	30,7 ^{bc}	44,0 ^{bc}	181	201	178	164
KU	3,56 ^a	6,2 ^a	33,2 ^b	46,5 ^b	193	213	186	-
LU	3,66 ^a	7,2 ^a	27,0 ^{bc}	38,8 ^{cd}	175	194	180	154
HO	3,72 ^a	2,6 ^b	53,2 ^a	64,8 ^a	223	242	185	-
DW	1,55 ^{bc}	8,1 ^a	27,7 ^{bc}	41,3 ^{bcd}	141	144	133	156
RK-G	1,91 ^b	8,0 ^a	29,1 ^{bc}	43,4 ^{bc}	138	146	133	156
Oldham	1,23 ^{cd}	6,2 ^a	28,7 ^{bc}	39,3 ^{cd}	122	122	114	128
Fuego	1,08 ^d	8,2 ^a	24,8 ^c	36,0 ^d	126	128	120	128
SE	0,2	0,7	1,6	1,5				

¹⁾ UDP-4, UDP-8: berechnetes unabgebautes Rohprotein mit einer Passagerate von 4 bzw. 8%/h. Der Anteil an nicht-verfügbares Stickstoff wurde nicht abgezogen.

²⁾ berechnet mit der Formel: $nXP = [11,93 - (6,82 * (UDP/XP))] * ME + 1,03 * UDP$

³⁾ berechnet mit der Formel: $nXP = 8,76 * ME + 0,36 * XP$

⁴⁾ DLG-Futterwerttabellen

⁵⁾ WK: Weißklee, RK: Rotklee, KU: Kaukasischer Klee, LU: Luzerne, HO: Hornklee, DW: Deutsches Weidelgras, RK-G: Deutsches Weidelgras als Begleitgras von Rotklee, Oldham, Fuego: Silomaisorten

durch Tannine gehemmt werden (BRODERICK, 1995). Die Wirkung kondensierter Tannine lässt sich u.a. anhand geringerer N-Ausscheidung im Harn als prozentualer Anteil der N-Aufnahme und mittels höherer N-Retention bei Hornklee- im Vergleich zu Luzernesilage nachweisen (FRASER et al., 2000).

Der rasche Abbau von Proteinen im Pansen kann bei einem Tanningehalt von ca. 20-50 g/kg TS reduziert und die Verfügbarkeit von Aminosäuren im Dünndarm erhöht werden (WAGHORN und SHELTON, 1997). Dieser Wert ist in der Literatur sehr umstritten. Dabei beschränkt sich die Diskussion nicht nur auf den Gehalt selbst, sondern es werden vor allem die Eigenschaften der Tannine, wie das Potential zur Komplexbildung mit Proteinen, das molekulare Gewicht und die Zusammensetzung der Tannine angesprochen (McMAHON et al., 2000). Diese Eigenschaften und ihre biologische Bedeutung sind zurzeit eine analytische Herausforderung.

Kondensierte Tannine kommen häufig in Leguminosen vor,

die Gehalte weisen erhebliche Variationen auf. Hohe Gehalte werden für Hornklee, Serradela und Esparsette berichtet. Aufgrund ihrer relativen geringen Ertragsbildung ist ihre Verbreitung gering und damit eine agronomische Relevanz bisher kaum gegeben. Neben der Leguminosenart selbst, haben auch Pflanzenorgan, Alter, Nährstoffversorgung der Pflanze sowie die Witterung einen modifizierend Einfluss auf den Tanningehalt (McMAHON et al., 2000). Die Identifizierung von Faktoren, die die Wirkung von Tanninen auf die N-Verwertung sowie die Veränderung des Tanningehaltes im Verlauf der Vegetationsperiode von Weiden steuern, ist von großer Bedeutung. Ein moderater Tanningehalt könnte sich unter Beweidungsbedingungen langfristig vorteilhaft hinsichtlich des N-Verlustpotentials von Leguminosen/Grasgemengen auswirken. Eine erhöhte N-Nutzungseffizienz durch die Wirkung tanninhaltiger Futterpflanzen in der Wiederkäuerernährung ist, wie oben dargestellt, bekannt, der Einfluss auf den Nährstoffkreislauf des Betriebes wurde bisher allerdings nur punktuell betrachtet.

Tabelle 2: PPO Aktivität (IU per protein (µg/g DM)) in Blättern von Rotklee

PPO Aktivität [IU per Protein (µg/g DM)]						
Erntezeit	Mai	Jun	Jul	Aug	Sept	Okt
SC, Jahre 2005 und 2006; n = 18; SE = 0,22						
	Aufw. 1			Aufw. 2		Aufw. 3
2005	1,33 ^{b,A}			1,18 ^b		2,59 ^{a,A}
2006	0,42 ^{ab,B}			0,90 ^a		0,19 ^{b,B}
<i>Mittel</i>	0,77			1,04		1,39
SG, Jahre 2005 und 2006; n = 30; SE = 0,27						
	Aufw. 1	Aufw. 2	Aufw. 3	Aufw. 4	Aufw. 5	<i>Mittel</i>
2005	1,62 ^b	1,50 ^b	1,89 ^{ab}	1,19 ^{b,B}	2,85 ^{a,A}	1,81
2006	1,04 ^{bc}	1,29 ^{bc}	1,90 ^b	3,11 ^{a,A}	0,40 ^{c,B}	1,55
<i>Mittel</i>	1,33	1,40	1,89	2,15	1,62	
RG verglichen mit SG, Jahr 2005; n = 30; SE = 0,34						
	Aufw. 1	Aufw. 2	Aufw. 3	Aufw. 4	Aufw. 5	<i>Mittel</i>
RG	1,57 ^b	3,29 ^{a,A}	3,06 ^{a,A}	3,03 ^{a,A}	4,11 ^{a,A}	3,01
SG	1,62 ^b	1,50 ^{b,B}	1,89 ^{ab,B}	1,19 ^{b,B}	2,85 ^{a,B}	1,81
<i>Mittel</i>	1,60	2,39	2,47	2,11	3,48	
SC±MS, Jahr 2006; n = 18; SE = 0,08						
	Aufw. 1		Aufw. 2		Aufw. 3	<i>Mittel</i>
SC	0,42		0,90		0,19	0,50 ^B
SC+MS	(0,42)*		1,33		0,17	0,64 ^A
<i>Mittel</i>	0,42 ^b		1,12 ^a		0,18 ^c	
SG±MS, Jahr 2006; n = 24; SE = 0,19						
	Aufw. 1	Aufw. 2	Aufw. 3	Aufw. 4	Aufw. 5	<i>Mittel</i>
SG	1,04	1,29	1,90	3,11	0,40	1,55
SG+MS		(1,29)*	2,80	3,13	0,43	1,91
<i>Mittel</i>		1,29 ^c	2,35 ^b	3,12 ^a	0,41 ^d	

^{a,b,c,d} Mittelwerte unterscheiden sich signifikant zwischen Aufwüchse innerhalb Jahre bei P<0.05

^{A,B} Mittelwerte unterscheiden sich signifikant zwischen Jahre/Systeme innerhalb Aufwüchse bei P<0.05

* Ernte erfolgte vor der Durchführung des mechanischen Stresses. Werte in Klammern sind vergleichbar mit SC oder SG.

SC Siloschnitt

SG Simulierte Weide

RG Umtriebsweide

+MS mit mechanischem Stress (Cambridge-Walze)

Polyphenoloxidase

Die Polyphenoloxidase (PPO) oder Tyrosinase ist ein weit verbreitetes Enzym und ist in Mikroorganismen, Tieren und Pflanzen zu finden. Für Wirbeltiere ist es in der Pigmentierung unerlässlich und bei Pflanzen ist es in den Thylakoiden der Chloroplasten enthalten. Die PPO katalysiert die *o*-Hydroxylierung der Monophenole (Monophenolase Aktivität) und die Oxidation von *o*-Diphenolen zu *o*-Chinonen (Diphenolase Aktivität) unter Verbrauch von molekularem Sauerstoff. Die Chinone polymerisieren und bilden dadurch bräunliche Pigmente. Diese Reaktion ist u.a. häufig bei Obst und Gemüse beschrieben (ESCRIBANO et al., 1997). Die gebildeten Chinone sind allerdings sehr instabil, was von der Natur der ursprünglichen *o*-Diphenole abhängig ist. Die instabilen Chinone können relativ schnell polymerisieren und mit anderen Molekülen wie Proteinen und Kohlenhydraten Verbindungen eingehen.

In der Wiederkäuerernährung sind die Verbindungen von Chinonen und Proteinen von großem Interesse. Analog zu kondensierten Tanninen besteht die Möglichkeit, dass durch die PPO-Aktivität die rasche Proteinabbaubarkeit in den Vormägen gehemmt wird. Verschiedene Leguminosen und Gräser wurden auf die Aktivität der PPO hin untersucht (JONES et al., 1995a; MARITA et al., 2005). Rotklee wies eine hohe PPO-Aktivität auf. Versuche mit Milchkühen zeigten eine höhere Stickstoffausscheidung in Milch und Harn, wenn Luzernesilage (kein Tannin oder PPO-Aktivität) im Vergleich zu Rotkleesilage (kein Tannin, aber hohe PPO-Aktivität) verfüttert wurde (BRODERICK et al., 2000; BRODERICK et al., 2001). Zu vermuten ist, dass die *o*-Chinonen nach ihrer Bildung über Wasserstoffbrücken Verbindungen mit Kohlenhydraten und Proteinen eingehen. Diese Komplexbildung ist, analog zu kondensierten Tanninen, unmittelbar vom pH-Wert abhängig, und kann so im Hinblick auf die Proteinabbaubarkeit im Pansen zur Reduzierung des raschen Proteinabbaus beitragen. Chinon-Protein Komplexe entstehen mit den Proteinen im Grüngut, aber auch mit den Glycoproteinen der Zellmembran der Mikroorganismen und den Enzymen, die sowohl Proteine als auch andere organische Moleküle im Pansen im Rahmen der Mikroorganismenaktivität zersetzen, wie z.B. Lipasen, aber auch pflanzeneigene Proteasen. Es wird vermutet, dass die Wirkung der *o*-Chinonen von mit Rotklee gefütterten Rindern zu einem verbesserten, für die Humanernährung günstigen Fettsäuremuster in Milch und Fleisch führen kann (DEWHURST et al., 2006; LEE et al., 2007).

Neueste Studien zeigen einen Einfluss der Bewirtschaftungsform auf die PPO-Aktivität (Tabelle 2). Eine Steigerung der PPO-Aktivität unter Beweidung konnte nachgewiesen werden, was die Induzierung der PPO-Aktivität als Reaktion zu mechanischem Stress nahe legt. Gesteigerte PPO-Aktivität durch den Einfluss mechanischen Stresses konnte im folgenden Jahr auch unter kontrollierten Bedingungen (Walzen) wiederholt nachgewiesen werden. In Bezug auf die Futterqualität, insbesondere die Proteinqualität, zeigte sich bei erhöhter PPO-Aktivität eine Verringerung der NPN-Fraktion des Rotklees (EICKLER et al., 2008).

Pflanzeneigene Proteasen

Durch die Aktivität der Proteasen können bei günstigen Temperaturen, ausreichender Feuchtigkeit und Veränderung des pH Wertes, über 50-60% des ursprünglichen Pflanzenproteins zu NPN-Verbindungen abgebaut werden (MESSMAN et al., 1994). Der Proteinabbau ist im Silo sehr ausgeprägt und ist unmittelbar vom Zusammenspiel der Siliertechnik und der Aufbereitung (Anwelkungsgrad, Einsatz von Zusatzstoffe, pH-Absenkung im Silo, u. a.) abhängig.

Studien unter Weidebedingungen zeigen, dass in den frühen Stadien nach Futteraufnahme die pflanzeneigenen Proteasen einen deutlichen Einfluss auf die Proteolyse im Pansen nehmen (BEHA et al., 2002; KINGSTON-SMITH et al., 2003). Es wird aber aus den unterschiedlichen Studien nicht klar, was die Auslösung der proteolytischen Aktivität bei noch intaktem pflanzlichem Gewebe hervorruft. In der Annahme, dass intakte Zellen in den Pansen gelangen, werden diese mit einer großen Anzahl an Stressfaktoren konfrontiert wie z.B. Dunkelheit, Sauerstoffmangel, einer erhöhten Temperatur von 39°C, einem pH-Wert von 6,5 bis 6,8 und letztlich mit einer aktiven Pansenmikrobenpopulation. Unter solchen Bedingungen schlagen KINGSTON-SMITH und THEODOROU (2000) vor, dass die Pflanzenzellen eine vorzeitige Seneszenz einleiten. BEHA et al., (2002) belegen, dass ein pflanzlicher Stoffwechsel im Pansen durchaus bestehen kann und somit die pflanzeneigene Proteolyse in den ersten Stunden nach Futteraufnahme auf der Weide, bei der Bestimmung der Proteinqualität von Grünlandaufwüchsen zu berücksichtigen ist.

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse einer Untersuchung bei der der Abbau von Blattprotein nach Inkubation in Pufferlösung unter pansenähnlichen Bedingungen (39°C, anaerob) untersucht wurde (LÖSCHE et al., 2008). Zum Inkubationszeitpunkt 0 h war der Proteingehalt zu allen Schnitterminen am höchsten, während im Verlauf der Inkubation die Gehalte an Protein sanken. Der Verlust an Protein in 24 h Inkubation entsprach 89% und 88% im Jahr 2006, und 88% und 93% im Jahr 2007 für den 1. und 2. Aufwuchs. Die Ergebnisse sind mit BEHA et al., (2002) vergleichbar. Diese Autoren fanden eine Reduktion im Proteingehalt von 82,3% nach 24 h bei vergleichbaren Inkubationsbedingungen für Deutsches Weidelgras. Die Verringerung im Proteingehalt weist auf eine Einwirkung von pflanzeneigenen Proteasen hin.

Tabelle 3: Veränderung im Blattprotein bei Dt. Weidelgras durch pflanzeneigene Proteasen im Mittel von 10 Deutsch' Weidelgras Genotypen

Inkubationsstufe	Schnittzeitpunkt			
	2006		2007	
	1. Aufw.	2. Aufw.	1. Aufw.	2. Aufw.
0 h	72,1 ^a	126,7 ^a	115,7 ^a	67,6 ^a
6 h	24,8 ^b	35,7 ^b	37,6 ^b	18,0 ^b
24 h	7,9 ^c	14,7 ^c	14,2 ^c	4,5 ^c
	SE = 3,3		SE = 2,5	
Abbauraten ¹⁾ , %/h	9,8	8,2	8,2	10,7

¹⁾ Abbauraten wurden anhand der Schätzformel $Kd (\%/h) = (\ln B_0 - \ln B_{24})/24$; B_0 und B_{24} sind die Proteingehalte nach 0 und 24 h Inkubation

Schlussfolgerung

- Eine Grundvoraussetzung für die bedarfsgerechte Fütterung von Milchkühen ist eine genaue, an die Verdauungsprozesse des Tieres angepasste, Futterwertbestimmung. In vitro-Methoden nähern sich den Verdauungsprozessen des Tieres an, stellen aber einen Kompromiss zum realen Verdauungsvorgang dar. Letztlich bleibt die in vivo-Bestimmung die genaueste Art der Futterwertbestimmung, allerdings sind Aufwand an Zeit und Arbeit enorm, so dass die Fülle an verschiedenen Futtermitteln auf diese Weise nicht bewertet werden könnte. Als weiteres Argument für die breite Nutzung von in vivo-Methoden sollte der Tierschutzaspekt nicht unberücksichtigt bleiben.
- Ein deutlicher Einfluss auf die Veränderung der Proteinqualität ist aus den aufgeführten sekundären Pflanzeninhaltsstoffen und deren Wirkung in den Vormägen der Wiederkäuer zu erkennen. Eine erhöhte N-Nutzungseffizienz durch die Wirkung tanninhaltiger Futterpflanzen ist in der Wiederkäuerernährung bekannt, allerdings im Nährstoffkreislauf von Betrieben nur punktuell nachgewiesen. Ist eine Steigerung der Grundfutterqualität beabsichtigt, muss das pflanzliche Gewebe berücksichtigt werden, es ist kein passives Opfer des Verdauungsprozesses.
- Während bei der Optimierung der Protein- und Energieversorgung von Milchkühen die Verfügbarkeit von Nährstoffen und Energie aus unterschiedlichen Futtermitteln für die Pansenmikroben betrachtet wurden, blieben bislang potentielle Veränderungen in der Futterpflanze auf züchterischem Wege für weidende Tiere weitgehend unberücksichtigt.

Literatur

- ALDERMANN, G., 1995: A review of current protein requirement systems for ruminants. In: International Symposium on the nutrient requirements of ruminants. Oct. 24-26th. Viçosa, Brazil.
- BEHA E.M., THEODOROU M.K., THOMAS B.J., KINGSTON-SMITH, A.H., 2002: Grass cells ingested by ruminants undergo autolysis which differs from senescence: implications for grass breeding targets and livestock production. *Plant Cell Environment* 25, 1299-1312
- BERG, B.P., MAJK, W., McALLISTER, T.A., HALL, J.W., MCCARTNEY, D., COULMAN, B.E., GOPLIN, B.P., ACHARYA, S.N., TAIT, R.M., CHENG, K.-J., 2000: Bloat in cattle grazing alfalfa cultivars selected for a low initial rate of digestion: a review. *Can. J. Plant. Sci.* 80, 493-502.
- BRODERICK, G.A., 1987: Determination of protein determination rates using a rumen in vitro system containing inhibitors of microbial nitrogen metabolism. *Br. J. Nutr.* 58, 463-475.
- BRODERICK, G.A., 1995: Desirable characteristics of forage legumes for improving protein utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 73, 2760-2773.
- BRODERICK, G.A., WALGENBACH, R.P., Maignan, S., 2001: Production of lactating dairy cows fed alfalfa or red clover silage at equal dry matter or crude protein contents in the diets. *J. Dairy Sci.* 84, 1728-1737.
- BRODERICK, G.A., WALGENBACH, R.P., STERRENBURG, E., 2000: Performance of lactating dairy cows fed alfalfa or red clover silage as the sole forage. *J. Dairy Sci.* 83, 1543-1551.
- CALSAMIGLIA, S., STERN, M.D., BACH, A., 2000: Enzymatic and microbial-cell preparation techniques for predicting rumen degradation and post-ruminal availability of protein. In: *Forage Evaluation in Ruminants*. GIVENS, D.I., OWENS, E., AXFORD, R.F.E., OMED, H.M. (eds.) CAB International, Wellingford, UK, pp. 259-279.
- DEWHURST, R.J., SHINGFIELD, K.J., LEE, M.R.F., SCOLLAN, N.D., 2006: Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 168-206.
- DÜNGEVERORDNUNG (2007): Düngeverordnung. Bundesgesetzblatt, Teil I, Nr. 7, Seiten 221-240. Ausgegeben zu Bonn am 5. März 2007.
- EICKLER, B., GIERUS, M. and TAUBE, F., 2008: PPO-Aktivität in Rotklee unter Berücksichtigung von Genotyp, Umweltfaktoren und Nutzungsintensität - Einfluss auf die Proteinqualität. *Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft Grünland und Futterbau*, 9, 168 – 171.
- ESCRIBANO, J., CABANES, J., CHAZARRA, S., GARCÍA-CARMONA, F., 1997: Characterization of monophenolase activity of table beet polyphenol oxidase. Determination of kinetic parameters on the tyramine/dopamine pair. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4209-4214.
- FRASER, M.D., FYCHAN, R., JONES, R., 2000: Voluntary intake, digestibility and nitrogen utilization by sheep fed ensiled forage legumes. *Grass and Forage Sci.* 55, 271-279.
- GIERUS, M., HERRMANN, A., TAUBE, F., 2007: Untersuchungen zum Rohproteinabbau von Futterleguminosen, Deutschem Weidelgras und Silomais. *Züchtungskunde* 79, 466-475.
- JONES, B.A., HATFIELD, R.D., MUCK, R.E., 1995a: Screening legume forages for soluble phenols, polyphenol oxidase and extract browning. *J. Sci Food Agric.* 67, 109-112.
- JONES, B.A., MUCK, R.E., HATFIELD, R.D., 1995b: Red clover extracts inhibit legume proteolysis. *J. Sci Food Agric.* 67, 329-333.
- KELM, M., WACHENDORF, M., TROTT, H., VOLKERS, K., and TAUBE, F., 2004: Performance and environmental effects of forage production on sandy soils. III. Energy efficiency in forage production from grassland and maize for silage. *Grass and Forage Science* 59, 69-79.
- KINGSTON-SMITH, A.H., BOLLARD, A.L., ARMSTEAD, I.P., THOMAS, B.J., THEODOROU, M.K., 2003: Proteolysis and cell death in clover leaves is induced by grazing. *Protoplasma*, 220, 119-129.
- KINGSTON-SMITH, A.H., THEODOROU, M.K., 2000: Post-ingestion metabolism of fresh forage. *New Phytol.*, 148, 37-55.
- LEE, M.R.F., PARFITT, L.J., SCOLLAN, N.D., MINCHIN, F.R., 2007: Lipolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities in the presence and absence of rumen fluid. *J. Sci. Food Agric.* 87, 1308-1314.
- LÖSCHE M., SALAMA H., GIERUS M., HERRMANN A., VOSS P., TAUBE F., 2008: Variation in plant-mediated proteolysis among 10 diploid perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) genotypes. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 17, 154.
- MADSEN, J., HVELPLUND, T., 1994: Prediction of in situ protein degradability in the rumen: results of a European ringtest. *Liv. Prod. Sci.* 39, 201-212.
- MARITA, J.M., HATFIELD, R.D., BRINK, G.E., 2005: Polyphenol oxidase activity and in vitro proteolytic inhibition in grasses. In: *XX International Grassland Congress*. Eds.: O'Mara, F.P. et al., Wage-

- ningen Academic Publishers, p. 220.
- McMAHON, L.R., McALLISTER, T.A., BERG, B.P., MAJAK, W., ACHARYA, S.N., POPP, J.D., COULMAN, B.E., WANG, Y., CHENG, K.-J., 2000: A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Can. J. Plant Sci.* 80, 469-485.
- MESSMAN, M.A., WEISS, W.P., KOCH, M.E., 1994: Changes in total and individual proteins during drying, ensiling, and ruminal fermentation of forages. *J. Dairy Sci.* 77, 492-500.
- SANTOS, F.A.P., SANTOS, J.E.P., THEURER, C.B., HUBER, J.T., 1998: Effect of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12 year literature review. *J. Dairy Sci.* 81, 3182-3213.
- SØEGAARD K., GIERUS M., HOPKINS A., HALLING M., 2007: Temporary grassland – challenges in the future. *Grassland Science in Europe* 12, 27-38.
- STEINGASS, H., LEBERL, P., 2008: In vitro Verfahren: eine notwendige Ergänzung zur Nährstoffanalytik bei Futtermitteln. *Übers. Tierernährg.* 36, 31-46.
- VOLDEN, H., 1999: Effects of level of feeding and ruminally undegraded protein on ruminal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestinal amino acid profile, and performance of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 77, 1905-1918.
- WAGHORN, G.C., SHELTON, I.D., 1997: Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. *J. Agric. Sci.* 128, 365-372.
- WILKERSON, V.A., KLOPFENSTEIN, T.J., STROUP, W.W., 1995: A collaborative study of in situ forage protein degradation. *J. Anim. Sci.* 73, 583-588.