



Östrogenwirkung zweier Rotkleearten im Vergleich

Andreas GUTZWILLER, Eidgenössische Forschungsanstalt für viehwirtschaftliche Produktion (FAG), CH-1725 Posieux

Die Schweizer Rotkleeart Formica, welche einen tiefen Gehalt an pflanzlichen Östrogenen enthält, hatte bei kastrierten männlichen Lämmern eine deutlich geringere östrogene Wirkung als eine herkömmliche Sorte mit einem hohen Östrogengehalt. Pflanzenöstrogene können die Fruchtbarkeit der Nutztiere negativ beeinflussen. Der Einsatz von östrogenarmen Rotkleearten in Kleeegrasmischungen mit einem hohen Anteil an Rotklee dürfte das Risiko von Fruchtbarkeitsproblemen beim Schaf vermindern.

Pflanzenöstrogene sind Substanzen, die natürlicherweise in bestimmten Pflanzen vorkommen und die im tierischen Organismus eine hormonähnliche Wirkung entfalten. Das in verschiedenen Kleearten enthaltene Formononetin wird von den Mikroorganismen des Pansens zur chemischen Verbindung Equol abgebaut, welches im Organismus der Wiederkäuer wie ein körpereigenes Östrogenhormon wirkt. Aus Australien ist seit langem bekannt, dass Schafe nach Beweidung von Futterflächen mit formononetinhaltigem Erdklee an Fruchtbarkeitsstörungen leiden

(Bennets *et al.* 1946). Formononetin soll zudem beim Schaf die Bildung von Harnsteinen fördern (Radostits *et al.* 1994). Das Rind scheint weniger empfindlich als das Schaf auf die östrogene Wirkung des Formononetins zu reagieren. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Aufnahme grosser Mengen an Formononetin sich auch beim Rind negativ auf die Fruchtbarkeit auswirkt.

An der Eidgenössischen Forschungsanstalt für landwirtschaftlichen Pflanzenbau Reckenholz wurde eine neue Rotkleeart namens Formica gezüchtet, welche rund

ein Drittel weniger Formononetin als die herkömmlichen Sorten enthält (Schubiger und Lehmann 1994). Es stellte sich nun die Frage, ob diese Reduktion des Formononetingehalts von biologischer Bedeutung ist, das heisst ob es im Organismus des Wiederkäuers zu einer messbaren Reduktion der Östrogenwirkung kommt, wenn die Kleeart Formica anstelle einer herkömmlichen Rotkleeart verfüttert wird.

Schafflämmer als «Bioindikatoren»

Auf diese Frage sollte der im folgenden beschriebene Fütterungsversuch eine Antwort geben. Als Versuchstiere wählten wir Schafe, da diese Tiere besonders empfindlich auf Formononetin reagieren. Kastrierte männliche Schafflämmer eignen sich für solche Untersuchungen, da Pflanzenöstrogene ihre Bulbourethraldrüse und ihre Zitzen vergrössern (Abb. 1 und 2). Die Gewichtszunahme dieser Organe ist ein einfach zu bestimmendes Mass für die Östrogenwirkung im Tier.

Durchführung des Versuchs

36 kastrierte männliche Schafflämmer mit einem Lebendgewicht von durchschnittlich 21 kg wurden anhand ihres Gewichts gleichmässig in drei Gruppen eingeteilt (F: Formica, V: Vanessa, H: Heu). Die Rationen der drei Gruppen bestanden hauptsächlich aus Rotklee der Sorte Formica (wenig Formononetin), aus Rotklee der Sorte Vanessa (viel Formononetin) beziehungsweise aus Heu einer Weissklee-Grasmischung (Tab. 1).

Nach neun bis zwölf Versuchswochen erfolgte eine Blutentnahme, die Schlachtung und die Untersuchung der Organe; zu jedem Schlachttermin wurden jeweils gleich viele Tiere aus jeder Gruppe geschlachtet.

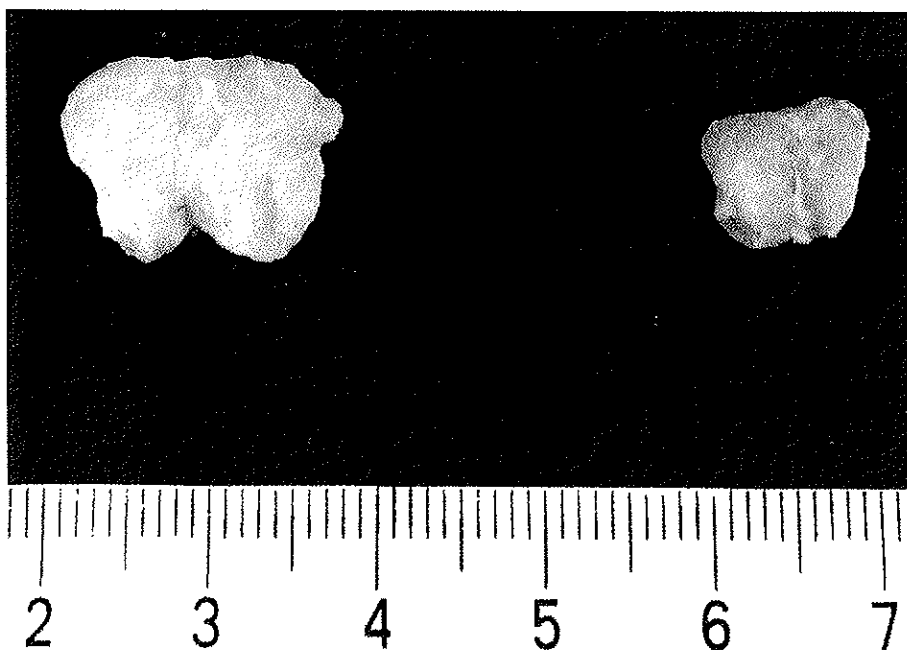


Abb. 1. Bulbourethraldrüsen von zwei kastrierten Schafflämmern. Die Bulbourethraldrüse ist eine auf der Harnröhre liegende akzessorische Geschlechtsdrüse, welche durch Geschlechtshormone zum Wachstum stimuliert wird. Das Organ links stammt von einem Tier, das formononetinreichen Klee der Sorte Vanessa erhalten hat, während das kleinere Organ rechts von einem Lamm stammt, das formononetinfreies Heu erhalten hat. Grössenangabe in cm. (Fotos: M. Duperré, Posieux)

Formononetin beeinflusste den Tageszuwachs nicht...

Wir verglichen das Wachstum der Tiere in den ersten neun Versuchswochen, d.h. bis zur Schlachtung der schwersten Tiere. Die Lämmer, welche pro Tag rund 0,9 kg Futter-TS aufnahmen, unterschieden sich nicht im Tageszuwachs (Gruppe Formica: 167 g; Gruppe Vanessa: 153 g; Gruppe Heu: 152 g). Obwohl östrogene Substanzen bei kastrierten Tieren prinzipiell anabol wirken und somit das Körperwachstum fördern, stellten wir in unserer Untersuchung keinen wachstumsfördernden Effekt des Formononetins fest.

...vergrößerte aber Zitzen und Bulbourethraldrüse

Der Einfluss des Formononetins auf die Grösse der Zitzen war so augenfällig, dass bei den meisten Lämmern anlässlich der Schlachtung auf einen Blick erkennbar war, ob sie zur Gruppe Heu oder zu einer der beiden Rotklee-Gruppen gehörten (s. Abb. 2). Tabelle 2 zeigt, dass die Zitzen der Lämmer, welche Rotklee Formica beziehungsweise Vanessa gefressen hatten, praktisch gleich schwere Zitzen hatten, während die Tiere der Heugruppe deutlich leichtere Zitzen hatten. Im Gegensatz dazu bewirkte der Klee Formica keine signifikante Vergrößerung der Bulbourethraldrüse, während der Klee Vanessa das Wachstum dieser Drüse deutlich stimulierte (Tab. 2). Die Cholesterinkonzentration im Blutplasma, die unter Östrogen Einfluss ansteigt, war in der Gruppe V tendenzmässig höher als in der Gruppe F ($p = 0,10$) und signifikant höher als in der Gruppe H (Tab. 2). In keiner einzigen Harnblase beziehungsweise Harnprobe fanden wir Harnsteine oder Harnsediment.

Die Befunde weisen darauf hin, dass die Zitzen schon auf geringere Mengen an Formononetin mit einer Vergrößerung reagieren als die Bulbourethraldrüse. Die im Rotklee Formica enthaltene Menge an Formononetin reichte aus, um das Zitzenwachstum deutlich zu stimulieren, und der höhere Phytoöstrogengehalt im Klee Vanessa vergrösserte dieses Organ nicht weiter. Der Formononetin Gehalt in der Rotkleesorte Formica liegt dagegen - im Gegensatz zum Klee Vanessa - unterhalb des Schwellenbereiches, der nötig ist, um die Bulbourethraldrüse zum Wachstum anzuregen. Während aufgrund der Zitzenbefunde geschlossen werden könnte, dass



Abb. 2. Unter dem Einfluss des Phytoöstrogens Formononetin wachsen die Zitzen kastrierter männlicher Lämmer (Zitzen links nach Verzehr von formononetinfreiem Heu, Zitzen rechts nach Verzehr von Rotklee der Sorte Vanessa).

Tab. 1. Zusammensetzung und Gehalt der drei Versuchsfutter

	Formica	Vanessa	Heu
Anteil der verschiedenen Futtermittel in der Futter-Trockensubstanz, %			
Rotklee Formica ¹	72		
Rotklee Vanessa ¹		72	
Heu Standardmischung 440	28	28	79
Gerste			21
Gehalt pro kg TS			
Rohprotein, g	170	170	120
NEL, MJ	6,1	6,1	5,8
Formononetin, g	3,4	5,1	Spuren

¹Der Rotklee (Kleeanteil in der Frischsubstanz: 88 - 97 %) wurde unmittelbar nach dem Schnitt portionenweise bei -20° C eingelagert und vor dem Verfüttern aufgetaut. Es handelte sich um Futterposten des 1., 2. und 3. Schnittes. Die Posten der Sorten Formica und Vanessa wurden gleichzeitig geschnitten, tiefgekühlt und verfüttert.

Tab. 2. Einfluss der Formononetinaufnahme auf die Zitzen und die Bulbourethraldrüse sowie auf den Plasmacholesterinspiegel

	Formica	Vanessa	Heu
Lebendgewicht zum Schlachtzeitpunkt, kg	31,9	30,7	31,0
Schlachtkörpergewicht (SKG), kg	12,9	12,7	12,2
Bulbourethraldrüse, mg/kg SKG	35 ± 10 ^B	50 ± 17 ^A	30 ± 9 ^B
Zitzen, mg/kg SKG	151 ± 52 ^A	161 ± 31 ^A	30 ± 17 ^B
Plasmacholesterin, mmol/l	0,91 ± 0,15 ^{ab}	1,03 ± 0,20 ^c	0,79 ± 0,18 ^b

Unterschiedliche Klein- bzw. Grossbuchstaben in einer Linie bedeuten statistisch gesicherte Unterschiede ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$).

die Kleesorte Formica mit reduziertem Formononetin Gehalt gegenüber den herkömmlichen Rotkleesorten keine Vorteile aufweist, zeigen die Befunde an den Bulbourethraldrüsen sowie die Cholesterinwerte im Plasma, dass die neue Rotkleesorte Formica im Organismus schwächer östrogen wirkt.

Folgerungen für die Praxis

Unsere Versuchsergebnisse zeigen eindeutig, dass die neue Rotkleesorte Formica als Schaffutter geeigneter ist als die formononetinreichen Sorten. Wie sieht es aber in der Rinderfütterung aus? Wie in der Ein-



Phytoöstrogene kommen nicht nur in Rotklee vor

Östrogene sind Geschlechtshormone, die in den Eierstöcken gebildet werden und die zusammen mit dem Progesteron verschiedene Geschlechtsfunktionen (Geschlechtszyklus, Trächtigkeit, Geburt) beeinflussen. Viele Futterpflanzen und pflanzliche Lebensmittel enthalten Stoffe, welche im Organismus wie die körpereigenen Östrogene wirken. Diese Stoffe heißen Pflanzen- oder Phytoöstrogene. Der Einfluss vieler Pflanzenöstrogene auf den Stoffwechsel und auf die Fruchtbarkeit ist nicht genau bekannt. Unter den Futterpflanzen sind vor allem verschiedene Kleearten und Luzerne als Ursache von Fortpflanzungsstörungen bekannt. Bei Befall mit Insekten oder Pilzen kann der Gehalt dieser Futterpflanzen an Coumestrol, einem Phytoöstrogen, auf das 10- bis 100-fache ansteigen (Le Bars *et al.* 1990). Die Pflanzenöstrogene sind recht stabil: während die Heubereitung zu einer leichten Abnahme der Östrogenwirkung führt, ist dies bei künstlicher Trocknung und Silierung nicht der Fall. Pilze der Gattung *Fusarium*, welche vorwiegend Getreide befallen, können das Östrogen Zearalenon bilden; Fruchtbarkeitsstörungen infolge Aufnahme von Zearalenon sind vor allem beim Schwein beschrieben worden.

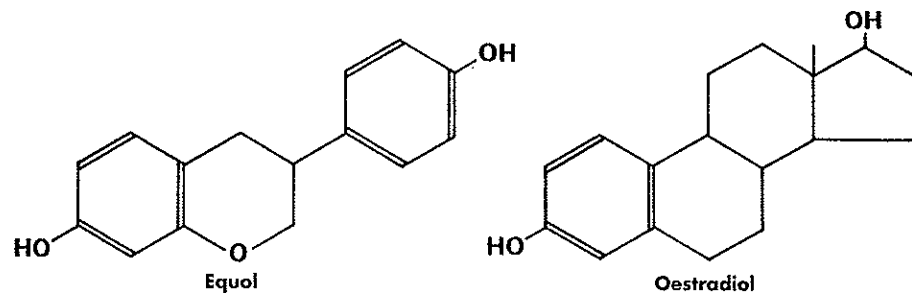


Abb. 3. Equol und Oestradiol: Die Vormagenmikroben bilden aus dem im Rotklee vorkommenden Formononetin die Verbindung Equol. Aufgrund seiner strukturellen Verwandtschaft mit den körpereigenen Östrogenen, wie zum Beispiel Oestradiol, wirkt Equol im Organismus des Wiederkäuers wie ein östrogenes Hormon.

leitung schon erwähnt wurde, reagiert das Rind viel weniger empfindlich auf Formononetin als das Schaf. Es sind jedoch auch Fälle von Fruchtbarkeitsstörungen bei Kühen beschrieben worden, welche durch Phytoöstrogene bedingt waren (Müller *et al.* 1989). Auch wenn die Bedeutung der Phytoöstrogene für die Fruchtbarkeit des Rindes nicht genau bekannt ist, spricht nichts gegen den Einsatz von formononetinarmen Kleesorten als Vorsichtsmassnahme gegen mögliche Fruchtbarkeitsstörungen.

Le Bars J., Le Bars P. et Brice G., 1990. Présence, accumulation et devenir du coumestrol dans la luzerne et ses dérivés. *Rec. Méd. Vét.* 166 (5), 463-469.

Müller H.-M., Hofmann J. und Mayr U., 1989. Stoffwechsel und Wirkung von Phytoöstrogenen beim Tier. *Übersichten zur Tierernährung* 17, 47-84.

Radostits O., Blood D. and Gay C., 1994. *Veterinary Medicine*. 8th ed., Baillière Tindall, London.

Schubiger F. und Lehmann J., 1994. Stoffe mit östrogenen Wirkung in Rotkleesorten. *Agrarforschung* 1 (8), 361-363.

nous avons comparé les effets œstrogènes de la nouvelle variété de trèfle violet «Formica» (F), qui contient une quantité réduite du phytoœstrogène formononétine, à ceux de la variété Vanessa (V); un groupe témoin (T) recevait une ration de foin composé de graminées et de trèfle blanc complété par de l'orge. Les rations des groupes F et V contenaient 72 % de trèfle violet frais et 28 % de foin dans la MS (teneur en formononétine: Formica 4 - 5 g, Vanessa 6 - 8 g, foin 0 g par kg de MS). Après une période expérimentale de 9 à 12 semaines, le poids des têtes des animaux F et V n'était pas différent, mais elles étaient dans les deux cas significativement plus lourdes que celles des animaux T. Par contre, le poids de la glande bulbourethrale des animaux V était significativement plus élevé que dans les deux autres groupes. Ceci montre que la nouvelle variété Formica induit significativement moins d'effets œstrogènes chez le mouton que les variétés riches en formononétine.

SUMMARY

Estrogenic effects of two varieties of red clover (*Trifolium pratense*) in sheep

In a trial comprising 3 groups of 12 wether lambs each, the estrogenic effects of the new red clover variety „Formica“ (F, 4 - 5 g/kg DM formononetin), was compared to that of the variety „Vanessa“ (V, 6 - 8 g/kg DM formononetin) and to a hay containing grass and white clover (H, only traces of formononetin). The diets of groups F and H contained 72 % fresh red clover plus 28 % grass/white clover hay in the DM, whereas group H received hay plus barley. After a feeding period of 9 - 12 weeks, plasma cholesterol tended to be higher in group V than in group F ($p = 0.10$) and was significantly higher than in group H. Teat weights did not differ between groups F and V, but were significantly higher in these groups than in group H ($p < 0.01$). Bulbourethral glands were significantly higher in group V than in the groups F and H ($p < 0.01$; 50^A vs 35^B and 30^B mg per kg carcass weight). The results show that the variety Formica is significantly less estrogenic in sheep than the existing formononetin rich varieties.

KEY WORDS: red clover, formononetin, sheep, estrogenic effects

RÉSUMÉ

Comparaison des effets œstrogènes de deux variétés de trèfle violet

Dans un essai comprenant trois groupes de chacun 12 agneaux mâles castrés,

LITERATUR

Bennets H., Underwood E. and Shier F., 1946. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia. *Aust. Vet. J.* 22, 2-12.