

LỢI ÍCH CỦA TANNIN CÔ ĐẶC TRONG CÂY THỨC ĂN HỌ ĐẬU ĐỐI VỚI ĐỘNG VẬT NHAI LẠI

Nguyễn Văn Quang

Viện Chăn nuôi

Tác giả liên hệ: Nguyễn Văn Quang. Tel: 0989637328. Email: quangvncn@gmail.com

TÓM TẮT

Tannin (acid tannic) thuộc nhóm polyphenol, là hợp chất có cấu trúc phức tạp và được chia thành 2 nhóm tannin thủy phân và tannin cô đặc (CT). Tannin (polyphenol) hiện diện trong hầu hết thực vật và có nhiều trong cà phê, trà, nho, cam thảo, dâu, cây hạt dẻ, các loại đậu... Tùy thuộc vào nguồn thực vật, thành phần và cấu trúc tannin cũng khác biệt rất lớn. Các phản ứng có lợi của động vật đối với tannin cô đặc khi hàm lượng phù hợp là cải thiện sự tăng trưởng, sản xuất sữa, khả năng sinh sản, và giảm lượng khí thải metan và bay hơi amoniac từ phân hoặc nước tiêu. Quan trọng nhất là khả năng chống lại tác động của giun tròn ký sinh đường tiêu hóa của thức ăn gia súc. Phản ứng của động vật là khác nhau với tannin cô đặc, ban đầu được cho là do nồng độ CT trong khẩu phần ăn, nhưng nghiên cứu gần đây đã nhấn mạnh tầm quan trọng của cấu trúc phân tử của chúng, cũng như nồng độ, và cả thành phần của khẩu phần ăn có chứa tannin cô đặc. Tầm quan trọng của các đặc điểm cấu trúc CT không thể được đánh giá thấp. Nghiên cứu liên ngành là chìa khóa để làm sáng tỏ mối quan hệ giữa các đặc điểm và hoạt động sinh học của CT và sẽ cho phép khai thác tốt hơn các hợp chất thực vật tự nhiên này trong các trang trại chăn nuôi. Nghiên cứu cũng cần thiết để cung cấp cho các nhà nhân giống cây trồng hướng dẫn và là công cụ sàng lọc để tối ưu hóa các đặc điểm CT trong thức ăn thô xanh và khẩu phần ăn của gia súc. Ngoài ra, cần cải thiện khả năng cạnh tranh và đặc điểm nông học của tannin cô đặc - chứa trong các cây họ đậu và sự hiểu biết về các lựa chọn để đưa chúng vào khẩu phần ăn cho gia súc nhai lại. Tổng quan này bao gồm các kết quả gần đây từ nghiên cứu đa ngành về cây đậu sainfoin (*Onobrychis* Mill. Spp.) và cung cấp một cái nhìn tổng quan về sự phát triển hiện tại với một số loại thức ăn gia súc, đặc biệt là cây họ đậu.

Từ khóa: *Tannin cô đặc, cây họ đậu, thức ăn, gia súc nhai lại.*

MỞ ĐẦU

Tannin có trong hầu hết các loài thực vật, đặc biệt là các cây bụi và cây họ đậu thân thảo. Tannin có nhiều trong các bộ phận của cây trồng như lá non và hoa (Terrill và cs., 1992). Theo Iason và cs. (1993) hàm lượng tannin có trong cây thay đổi theo mùa, trong giai đoạn tăng trưởng của cây. Hàm lượng và hoạt tính sinh học của tannin ở các loài thực vật rất biến động. Yếu tố phổ biến ảnh hưởng đến biến động này bao gồm: mùa vụ, thành phần của cây, tuổi hay giai đoạn sinh lý của cây và dạng sinh học của hợp chất tannin (Hoste và cs., 2006, 2008; Athanasiadou và cs., 2007). Trong đó, quan trọng là thay đổi của hợp chất polyphenolic và hoạt động sinh học của tannin trong khẩu phần ăn của gia súc. Tannin có tác dụng bất lợi hay có lợi tùy thuộc vào nồng độ và bản chất của tannin, loài gia súc, trạng thái sinh lý của gia súc và thành phần nguyên liệu của khẩu phần. Những nghiên cứu gần đây đã chứng minh khi tannin được sử dụng với liều lượng đúng mức, tùy nguồn gốc thực vật, và cấu trúc có thể nâng cao năng suất vật nuôi, tăng cường sức khỏe, kháng khuẩn và giảm ô nhiễm môi trường (Mueller - Harvey, 2006; Waghorn, 2008). Việc nghiên cứu về tannin cô đặc (CT) trong thực vật vẫn còn những khoảng trống lớn đặt ra thách thức mới trong công tác nhân giống cây trồng, khoa học động vật và hóa học phân tích. Sự tiến bộ trong tất cả các lĩnh vực này là rất cần thiết để hiểu được các cơ chế làm nền tảng cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm khai thác tối đa các lợi ích của CT trong chăn nuôi.

Bài tổng quan này tóm tắt kết quả của một số nghiên cứu đa ngành về CT bao gồm: Các nhà nông học và chọn tạo giống cây trồng đã nghiên cứu CT trên cây đậu sainfoin (*Onobrychis* Mill. Spp.); Các nhà dinh dưỡng học về động vật nhai lại đã nghiên cứu các cách tiếp cận

khác nhau về các đặc điểm lên men trong điều kiện *in vitro* của CT và các thử nghiệm cho ăn trong điều kiện *in vivo*, cân bằng nitơ và chất lượng của thịt và các sản phẩm từ sữa. Các nhà ký sinh trùng học đã khám phá các đặc tính chống ký sinh trùng của một loạt các đặc điểm CT, và các nhà hóa học đã phát triển các công cụ để phân tích CT nhằm gợi mở thảo luận về hướng triển khai lĩnh vực nghiên cứu này, cách tối ưu hóa hoạt tính sinh học của CT trong cây thức ăn chăn nuôi và ứng dụng vào trong sản xuất.

Vai trò của tannin trong thực vật và hướng khai thác lợi ích của chúng cho chăn nuôi

Nhiều tài liệu nói về tannin là chất chuyển hóa thực vật “thứ cấp” và cung cấp khả năng bảo vệ chống lại động vật ăn cỏ. Tuy nhiên, động vật ăn cỏ bao gồm các loài, từ côn trùng đến động vật nhai lại và có hệ thống đường ruột khác biệt. Mặc dù tannin có thể giải thích cho tác dụng kháng ký sinh trùng ở côn trùng nhưng đối với động vật nhai lại cho thấy tác dụng của chúng là không đáng kể vì thức ăn chứa CT vẫn được tiêu thụ và việc lựa chọn thường xuyên đó là cỏ (Salminen và Karonen, 2011). Trong thực vật, lá thường được gia súc lựa chọn ưu tiên hơn thân cây mặc dù nồng độ CT cao hơn. Những nghiên cứu hiện tại cho thấy các chất chuyển hóa thứ cấp này cung cấp cho thực vật khả năng có thể hỗ trợ sự phát triển và tương tác của chúng với môi trường (Mouradov và Spangenberg, 2014). Khái niệm này cho rằng các CT có thể có nhiều chức năng và tương quan với nhau, hiện đang được quan tâm. Điều quan trọng là có vô số hợp chất CT khác nhau tồn tại, và sự tổng hợp của chúng trong giới thực vật đã không hội tụ vào một cấu trúc duy nhất. Những phát hiện này cho thấy chức năng của CT xứng đáng được xem xét kỹ hơn trong khoa học thực vật và cây trồng (Salminen và Karonen, 2011; Zeller, 2019).

Đối với động vật, khi nồng độ CT trong khẩu phần ăn quá cao hoặc nồng độ protein quá thấp, như trong môi trường nhiệt đới nơi cỏ có thể có ít nitơ và lá cây có thể có nồng độ CT cao, CT có thể kháng dinh dưỡng (Cooper và cs., 1988). Những lợi ích của CT đã được chứng minh trong thức ăn có chứa CT với động vật nhai lại (Mueller - Harvey, 2006; Waghorn, 2008). Những lợi ích dinh dưỡng bao gồm cải thiện sự tăng trưởng, sản lượng sữa, khả năng sinh sản và khả năng chống chịu một số ký sinh trùng đường ruột và việc bảo vệ protein của thức ăn từ quá trình lên men trong dạ cỏ. Các lợi ích khác bao gồm phòng ngừa đầy hơi và tác dụng chống ký sinh trùng đường tiêu hóa (Hoste và cs., 2015, 2016; MacAdam và Villalba, 2015). Mặc dù thực vật tổng hợp nhiều loại tannin khác nhau, nhưng bài viết này sẽ tập trung vào CT liên quan đến cây họ đậu và một số cây cỏ khác. Tannin thủy phân không được xem xét ở đây, mặc dù nhiều bằng chứng cho rằng một số có thể gây ra tác dụng hoạt tính sinh học hữu ích tương tự (Engström và cs., 2016; Bee và cs., 2017).

Vấn đề quan trọng cho việc nghiên cứu và sử dụng các loại cây họ đậu của các nhà chăn nuôi là không chế được hàm lượng CT, cải thiện lợi nhuận của các cơ sở chăn nuôi, kiểm soát ký sinh trùng và giảm khí thải nhà kính và khí amoniac (McCaslin và cs., 2014; Hoste và cs., 2015). Kháng dinh dưỡng đối với CT đã thay đổi và điều này dẫn đến các báo cáo mâu thuẫn về tác dụng của chúng (Min và cs., 2003; Mueller - Harvey, 2006; Waghorn, 2008). Điều này không có gì đáng ngạc nhiên vì sự phức tạp của CT trong thực vật, tác động của chúng khi thức ăn thô xanh được cho ăn như một chế độ ăn duy nhất trong khẩu phần hàng ngày đối với gia súc nhai lại, và sự tương tác của chúng với các thành phần thức ăn, mô vật chủ và hệ vi sinh vật, cộng với các tác động bắt nguồn từ nhu cầu dinh dưỡng của động vật và ký sinh trùng. Cần có một cách tiếp cận nghiên cứu đa ngành phối hợp để khai thác toàn bộ tiềm năng của CT cho chăn nuôi (Mueller - Harvey, 2006; Waghorn, 2008).

Những thách thức và cơ hội của thực vật có các loại tannin cô đặc khác nhau

Hiện nay người ta đã xác định rõ rằng sự tổng hợp CT nằm dưới sự kiểm soát di truyền (Cheynier và cs., 2013; Escaray và cs., 2014) và biểu hiện đó phụ thuộc vào loài thực vật và các bộ phận khác nhau của cây (Zhou và cs., 2015; Zhu và cs., 2015; Chezem và Clay, 2016). Các cuộc khảo sát hóa học về sự phân bố CT trong thực vật nói chung và của cây họ đậu nói riêng đã phát hiện ra rằng các chế phẩm CT có xu hướng tuân theo các mô hình sinh tổng hợp riêng biệt về thành phần tiểu đơn vị flavan - 3 - ol của chúng và kích thước polyme được mô tả dưới dạng trung bình mức độ trùng hợp (mDP). Thực vật có CT loại procyanidin (PC) phổ biến hơn nhiều so với thực vật có CT loại prodelphinidin (PD) nhưng nhiều loài thực vật khác có chứa hỗn hợp PC / PD. Các mô hình sinh tổng hợp này có thể tạo ra các hiệu ứng mâu thuẫn và gây nhiều khi cố gắng sắp xếp cấu trúc CT với hoạt tính sinh học (Laaksonen và cs., 2015; Hixson và cs., 2016). Tuy nhiên, các CT cụ thể trong mỗi loài thực vật này có thể cung cấp các cơ hội nghiên cứu duy nhất, bởi vì rất khó để tách đủ số lượng của một loại CT cụ thể khỏi hỗn hợp CT phức tạp trong phòng thí nghiệm hoặc trong nghiên cứu ống nghiệm.

Một cách tiếp cận khác là sử dụng CT từ “các cây chuyên dụng về CT”. Có thể tách biệt các nhóm tinh khiết đã được cải tiến của các PC (procyanidin) hoặc PD (prodelphinidin) có cấu trúc lập thể *cis* - hoặc *trans* - flavan - 3 - ol có thể được phân lập từ các cây chuyên dụng này, được tách ra trong phòng thí nghiệm thành các biến thể mDP (mean degree of polymerization) và được sử dụng để khám phá các hoạt động sinh học khác nhau Tỷ lệ PC / PD, *cis* - / *trans* - flavan - tỷ lệ 3 - ol và kích thước polymer (Brown và cs., 2017). Hiện tại, đây là cách tiếp cận đơn giản nhất đối với nghiên cứu cấu trúc, bởi vì quá trình tổng hợp hóa học của CT thậm chí còn khó khăn hơn.

Bước tiến trong phân tích tannin

Một số kỹ thuật mới đã được phát triển gần đây để phân tích hỗn hợp CT. Zeller (2019) đã đề cập chi tiết chủ đề này, chỉ có một vài kỹ thuật bổ sung được mô tả dưới đây. Một hạn chế quan trọng trong việc tìm kiếm dữ liệu tannin hợp lệ là các yêu cầu về tiêu chuẩn cao độ tinh khiết cho định lượng, có nghĩa là nồng độ CT và độ tinh khiết của nhu cầu tiêu chuẩn được đánh giá bởi CT - phương pháp cụ thể như thiolytic (Gea và cs., 2011; Grabber và cs., 2013; Williams và cs., 2014a) hoặc quang phổ cộng hưởng từ hạt nhân (Zeller và cs., 2015a).

Những thách thức khác bao gồm sự thay đổi trong khả năng trích xuất của CT. Một số có thể được chiết xuất bằng nước hoặc metanol trong nước, và một số khác yêu cầu acetone dạng nước, nhưng nhiều CT được liên kết chặt chẽ với chất nền thực vật và không thể được chiết xuất bằng các dung môi này. Bằng cách sử dụng các kỹ thuật chỉ đo lường các CT có thể trích xuất dễ dàng, các nhà nghiên cứu có thể có nguy cơ bỏ sót một phần lớn các hoạt tính sinh học quan trọng tiềm ẩn (Cheynier và cs., 2015; Hixson và cs., 2016). Chưa xác định được tác động của CT có thể chiết xuất so với không thể trích xuất đối với dinh dưỡng và sức khỏe của động vật nhai lại.

Phân tích CT bằng thiols hoặc phloroglucinol có thể được sử dụng để xác định thành phần của CT bằng cách khử polyme, cho phép mô tả đặc tính của tiểu đơn vị flavan - 3 - ol (Zeller, 2019). Việc sử dụng thiolytic để phân tích CT trong toàn bộ nguyên liệu thực vật (loại bỏ nhu cầu chiết xuất) đã được báo cáo đầu tiên bởi Guyot và cs., (2001b) đối với bã tảo và sau đó và sau đó điều chỉnh với cây sainfoin và các mẫu thực phẩm (Hellström và Mattila, 2008; Gea và cs., 2011).

Tuy nhiên, thiolytic cũng có thể tạo ra sản lượng cao gấp ba lần so với xét nghiệm HCl - butanol - acetone (Drake và Mueller - Harvey, 2016); những CT đặc biệt này có mức độ

galloylation cao, và điều này cho thấy sự thay đổi trong khả năng phản ứng của CT và sản lượng của các sản phẩm cuối có thể thử nghiệm. Những mâu thuẫn minh họa thách thức trong việc xác định số lượng và loại CT trong nguyên liệu thức ăn gia súc và củng cố các trường hợp sử dụng nhiều hơn một phương pháp để phân tích CT cho việc sử dụng một loại cây trồng cụ thể.

Kỹ thuật quang phổ hồng ngoại được các nhà nhân giống cây trồng đặc biệt quan tâm do tốc độ và sự phù hợp của chúng để sàng lọc số lượng lớn mẫu. Phân tích mẫu bằng NIRS (near-infrared reflectance spectroscopy) nhanh chóng nhưng yêu cầu hiệu chuẩn mạnh mẽ dựa trên các phân tích trong phòng thí nghiệm. Sau khi được hiệu chuẩn, một lần quét NIRS cũng có thể tạo ra một lượng lớn thông tin về các thông số dinh dưỡng khác, chẳng hạn như chất xơ, protein, carbohydrate hòa tan, lignin, chất khô và hàm lượng tro, cũng như khả năng tiêu hóa và tổng năng lượng được dự đoán (Givens và cs., 2000).

Sự biến đổi tannin trong các nguồn gen và tiềm năng tạo giống cây trồng theo hướng tính trạng

Sự phù hợp của thành phần CT với chức năng mang lại cơ hội khai thác hoạt tính sinh học của chúng và các bộ sưu tập nguồn gen cung cấp nguồn biến thể CT phong phú (Hayot Carbonero và cs., 2011; Klongsiriwet, 2016). Nồng độ của CT khác nhau rất nhiều không chỉ giữa các loài thực vật mà còn giữa các nhóm (Grabber và cs., 2015; Hixson và cs., 2016). Các đặc điểm CT cũng có thể khác nhau rõ rệt giữa các lần lấy mẫu và giữa các bộ phận của cùng một cây (Springer và cs., 2002). Điều này có nghĩa là nhân giống cây trồng có thể nhắm mục tiêu thành phần và nồng độ CT, điều này rất quan trọng vì những đặc điểm này đã được liên kết với các hoạt động sinh học khác nhau. Cả nồng độ và thành phần có thể thay đổi theo mùa (Grabber và cs., 2015; Muir và cs., 2017), nhưng sự khác biệt nồng độ có xu hướng lớn hơn nhiều (Springer và cs., 2002; Stringano và cs., 2012). Điều quan trọng là không có tương tác kiểu gen $\times$ môi trường (Azuhwi và cs., 2013a; Malisch và cs., 2016); điều này chứng tỏ rằng có những cơ hội cho nhân giống mới theo hướng tính trạng.

Cũng có thể thay đổi thành phần CT thông qua các thí nghiệm chéo thông thường. Scioneaux và cs. (2011) cho biết thành phần CT, đặc biệt là kích thước polymer trung bình (giá trị mDP), trong *Populus L* được kiểm soát bởi di truyền và môi trường (vị trí) và mùa (tháng) chỉ có tác động nhỏ. Ngoài ra, phép lai giữa các loài có thể tạo ra các loài thực vật với các tính trạng có CT mới, như đã được chứng minh bằng cây cỏ ba lá hẹp (*Lotus tenuis* Walld. & Kit. Ex Willd.) Các cây cỏ lai chân chim (Escaray và cs., 2014).

Các chất đánh dấu phân tử rất hữu ích trong việc phân tích đa dạng di truyền, lập bản đồ và phân tích các locus tính trạng số lượng và bộ gen hỗ trợ nhân giống. Công nghệ giải trình tự thế hệ tiếp theo đang tạo điều kiện thuận lợi cho việc xác định và sử dụng các chỉ thị phân tử trong di truyền và tạo giống cây trồng. Công nghệ giải trình tự RNA là một cách hiệu quả để thu thập thông tin trình tự của tất cả các gen được biểu hiện trong một mô thực vật nhất định và nó cũng có thể được khai thác để tạo ra các đa hình chỉ thị phân tử.

Mối quan hệ giữa cấu trúc tannin cô đặc và tác dụng chống ký sinh trùng

Ký sinh trùng làm tiêu hao một lượng dinh dưỡng đáng kể với động vật, và do đó kiểm soát ký sinh trùng sẽ gián tiếp có lợi cho tình trạng dinh dưỡng của động vật. Đây là lý do để lưu ý rằng thức ăn thô xanh có CT được sử dụng cho mục đích dinh dưỡng, trong đó đề cập đến một hành động kết hợp giữa lợi ích dinh dưỡng và chống ký sinh trùng bao gồm thuốc tẩy giun sán (Terrill và cs., 2012; Hoste và cs., 2016) và tác dụng chống giun sán (Kommuru và cs.,

2014; Saratsis và cs., 2016). Hầu hết các bằng chứng về tác dụng chống giun của CT bắt nguồn từ các thử nghiệm *in vitro*, nhưng một số thử nghiệm cho ăn trong điều kiện thí nghiệm *in vivo* có kiểm soát cũng mang lại kết quả đầy hứa hẹn. Do đó, kịp thời tóm tắt các xu hướng mới nổi và mối quan hệ của cấu trúc CT thu được với một loạt các thử nghiệm *in vitro*, để hướng dẫn các thử nghiệm cho ăn của động vật trong tương lai.

Cơ chế hoạt động của tannin cô đặc chống ký sinh trùng

Người ta cho rằng khả năng của CT để ức chế tuyến trùng đường tiêu hóa bắt nguồn từ khả năng liên kết với protein (Hoste và cs., 2012). Do đó, CT có thể hành động bằng cách ức chế các enzyme chính của ký sinh trùng, và thực sự ức chế glutathione của ký sinh trùng đóng vai trò quan trọng trong việc giải độc các hợp chất xenobiotic đã được xác nhận trong các thí nghiệm *in vitro* (Hansen và cs., 2016). Các Prodelphinidin có nhiều nhóm phenolic có khả năng tạo liên kết hydro với protein hơn PC, nhưng cũng đã xác định rằng giá trị mDP là yếu tố quan trọng nhất để tổng hợp và kết tủa protein CT (Zeller và cs., 2015b; Ropiak và cs., 2017). Tổng hợp lại, những quan sát này có thể giải thích tại sao các PD, thường có giá trị mDP lớn hơn PC, có đặc tính tẩy giun sán tốt hơn (Hoste và cs., 2016; Kommuru và cs., 2014, 2015).

Bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử, một số nghiên cứu đã cho thấy biến dạng vật lý của giun trưởng thành *H. contortus* đã tiếp xúc với CT trong các thí nghiệm *in vitro* hoặc được thu thập sau khi cho ăn lá cây sericea lespedeza, cây sainfoin hoặc tzalam [*Lysiloma latisiliquum* (L.) Benth.] (Kommuru và cs., 2015). Các bề mặt teo lại và hình thành mảng bám xung quanh các lỗ miệng có thể là nguyên nhân gây ức chế cho ăn và giảm khả năng sinh sản cho là xuất phát từ các CT tương tác trực tiếp với protein trên bề mặt ký sinh trùng (Ropiak và cs., 2016a). Kính hiển vi điện tử quét và truyền dẫn phát hiện không chỉ tổn thương bên ngoài mà cả tổn thương bên trong lớp biểu bì và giác quan vùng môi của con non và con trưởng thành bởi các loại CT khác nhau, và lớp biểu bì và mô bên dưới (ví dụ, tế bào cơ) và tế bào ruột của Ấu trùng *H. contortus* L3 và trưởng thành và của ấu trùng *T. colubriformis* L3 bởi CT trong cây sainfoin và tzalam (Brunet và cs., 2011; Martínez - Ortiz - de - Montellano và cs., 2013; Ropiak và cs., 2016b). Do sự hấp thu thấp (tính khả dụng sinh học) của CT polymer trong mô động vật có vú so với flavonoid đơn phân (Li và Hagerman, 2013), sẽ rất đáng để khám phá liệu tổn thương mô bên trong phát sinh từ CT hay từ các hợp chất khác có thể có trong chiết xuất thực vật (Desrues và cs., 2016a; Mengistu và cs., 2017). Chất tannin cô đặc cùng với flavone (luteolin), flavonol (quercetin) hoặc cinnamaldehyde có thể hoạt động hiệp đồng chống lại tuyến trùng ký sinh trong ống nghiệm (Hoste và cs., 2016; Ropiak và cs., 2016a). Những phát hiện *in vitro* này chưa được thử nghiệm trong các thử nghiệm cho ăn bằng cách sử dụng kết hợp các loại thức ăn có CT khác nhau và các hợp chất đơn phân như vậy, nhưng sự kết hợp như vậy hy vọng sẽ dẫn đến các ứng dụng trong trang trại trong tương lai. Phản ứng của mô và vật chủ đối với tannin cô đặc.

Mô và vật chủ phản ứng với tannin cô đặc

Ngoài tác dụng tẩy giun sán trực tiếp chống lại ký sinh trùng, còn cần nhiều nghiên cứu hơn về cách CT có thể ảnh hưởng đến phản ứng của vật chủ đối với ký sinh trùng. Niezen và cs. (2002) đã đo hiệu giá kháng thể chống lại các kháng nguyên cao hơn đối với *T. colubriformis* trưởng thành và *T. colubriformis* trưởng thành và ấu trùng khi cừu con được cho ăn cỏ sulla so với cỏ linh lăng. Điều này có thể là kết quả của việc tăng lưu lượng protein và axit amin trong ruột liên quan đến việc bảo vệ động vật nhai lại sự thoái hóa protein, có thể góp phần vào khả năng duy trì sự phát triển, chức năng miễn dịch và điều chỉnh quần thể giun của vật

chủ (Ramírez - Restrepo và cs., 2010; Hoste và cs., 2012). Hơn nữa, các nghiên cứu trong ống nghiệm gần đây cũng chỉ ra rằng CT có thể điều chỉnh trực tiếp hoạt động của các tế bào miễn dịch như tế bào γδ T và tế bào đuôi gai, có khả năng tăng cường phản ứng miễn dịch bẩm sinh của vật chủ (Tibe và cs., 2012; Williams và cs., 2016, 2017). Tương tự như các nghiên cứu hoạt tính sinh học khác, hoạt động điều biến miễn dịch trong ống nghiệm phụ thuộc nhiều vào kích thước CT, với mDP > 6 tạo ra phản ứng mạnh hơn so với CT có mDP < 6 và các monome flavan an 3 - ol có ít hoặc không ảnh hưởng (Williams và cs., 2016, 2017).

Ảnh hưởng của quá trình lên men đến hoạt động tannin cô đặc

Theo kết quả từ các thử nghiệm HCl - butanol - acetone hoặc thiolytic, quá trình lên men có thể làm giảm nồng độ CT “biểu kiến” tương ứng là 30 hoặc 85% trong thức ăn ủ chua (Mena và cs., 2015; Ramsay và cs., 2015) và ruột (Desrués và cs., 2017; Quijada và cs., 2018). Tuy nhiên, bất chấp những tổn thất rõ ràng này, dịch chiết xuất và ủ chua cỏ sericea lespedeza và sainfoin vẫn phát huy tác dụng tẩy giun sán trong ống nghiệm bằng cách ức chế sự nở của ấu trùng *H. contortus* L3 và *in vivo* bằng cách giảm sinh trưởng của giun trưởng thành và số lượng trứng trong phân (Manolaraki, 2011; Terrill và cs., 2016). Điều này có thể là do có đủ số lượng CT chưa phân cấp hoặc sự thủy phân của flavonoid tẩy giun sán từ glycosid không hoạt động (Manolaraki, 2011), hoặc do CT liên kết với protein sống sót sau quá trình lên men ở động vật nhai lại và thực hiện hoạt động tẩy giun sán trong abomasum, nơi pH thấp hơn tạo điều kiện phân ly phức hợp protein CT (Jones và Mangan, 1977). Hoạt tính cao chống lại giun tròn *O. ostertagi* của abomasum trái ngược với không có hoạt tính chống lại giun tròn giáp tạng trên ruột và có liên quan đến 2,3% CTs (g 100 g⁻¹ chất khô bằng cách phân giải) trong abomasum so với 0,02% CT trong ruột (Desrués và cs., 2016a, 2016b, 2017). Tuy nhiên, cả hai loài tuyến trùng đều bị ảnh hưởng bởi CTs trong thử nghiệm ức chế ăn ấu trùng trong điều kiện *in vitro* (Desrués và cs., 2016a).

Ảnh hưởng của tannin cô đặc đến quá trình lên men trong dạ cỏ của động vật nhai lại tác động đến dinh dưỡng và phát thải khí nhà kính

Ảnh hưởng đến dinh dưỡng và sử dụng protein trong chế độ ăn

Tác dụng dinh dưỡng của CT hiện nay được hiểu theo thuật ngữ chung và thông tin liên quan đến cách CT ảnh hưởng đến các quá trình cụ thể hiện chỉ được xác định bằng cách xác định các đặc điểm CT của thức ăn gia súc được sử dụng cho các phép đo trong điều kiện *in vivo* và *in vitro* và tác động của chúng đối với hệ vi sinh vật (Grosse Brinkhaus và cs., 2016, 2017). Liên kết với protein trong khẩu phần và giảm sự phân giải protein trong dạ cỏ, dẫn đến tỷ lệ protein trong khẩu phần đi đến ruột non cao hơn, đã được đo lường (Waghorn, 2008), nhưng các chi tiết và cơ chế vẫn chưa được hiểu rõ. Các phát hiện của Kariuki và Norton (2008) chỉ ra rằng sự giải phóng protein trong chế độ ăn uống giữa dạ dày và hồi tràng cuối có tương quan với khả năng kết tủa protein của CT, điều này phụ thuộc vào cấu trúc của cả CT và protein (Hagerman và Butler, 1981; Dobrev và cs., 2012). Do đó, những điều chưa biết liên quan đến tương tác của CT với chức năng dạ cỏ, sự phát triển của vi sinh vật và sự hấp thụ của ruột cần được đánh giá về các đặc điểm CT trong chế độ ăn.

Vì CT làm giảm quá trình tiêu hóa protein trong dạ cỏ và trên toàn bộ đường tiêu hóa (Waghorn, 2008), nên không có khả năng mang lại bất kỳ lợi ích dinh dưỡng nào khi protein thô trong khẩu phần ăn không đủ. Lợi ích có nhiều khả năng hơn khi protein trong chế độ ăn uống vượt quá yêu cầu. Tuy nhiên, nếu có đủ protein (hoặc axit amin), các chất dinh dưỡng khác đang bị hạn chế (ví dụ, năng lượng hoặc photpho) thì việc cung cấp thêm protein sẽ không cải thiện sản xuất (Waghorn, 2008; Pagán - Riestra và cs., 2010). Do đó, các phương

pháp mà động vật được cho ăn và trạng thái sinh lý của chúng (ví dụ, cho con bú, tăng trưởng hoặc duy trì) khi đánh giá tác động dinh dưỡng của CT có thể góp phần dẫn đến kết quả không nhất quán. Ngoài ra, các biện pháp so sánh về tiêu hóa có thể bị nhầm lẫn bởi sự thay đổi trong lượng ăn vào, vì tăng lượng ăn vào có thể làm giảm khả năng tiêu hóa (Tyrrell và Moe, 1975), nhưng trong những trường hợp khác thì không có tác dụng (Hammond và cs., 2013).

Các kết quả khác nhau có thể được nghiên cứu bằng cách xem xét các đặc điểm CT kết hợp với thành phần chế độ ăn uống (ví dụ: protein, chất xơ, hàm lượng carbohydrate hòa tan trong nước, tinh bột và axit amin), vì chúng có thể bị ảnh hưởng bởi môi trường, phương pháp thu hoạch, hoặc bảo quản thức ăn gia súc (Grabber và cs., 2015). Điều này có nghĩa là đánh giá dinh dưỡng của cây có CT cần được thực hiện trong các điều kiện được theo dõi và có kiểm soát, với thông tin về phương pháp thu hoạch và bảo quản (chăn thả, phơi khô dưới dạng cỏ khô hoặc viên nén, hoặc ủ chua). Một vấn đề quan trọng khác có thể là cách cho động vật ăn, bởi vì các đặc điểm CT cũng khác nhau trong thực vật. Đối với một cây thức ăn xanh, cho ăn ở dạng viên, cỏ khô hoặc ủ chua dẫn đến giá trị dinh dưỡng và nồng độ CT trong thức ăn rất khác so với chăn thả trực tiếp trên đồng cỏ.

Ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm động vật

Có một số ảnh hưởng của chế độ ăn cây sainfoin đến chất lượng sữa và thịt và phản ứng sinh lý của động vật đối với CT trong chế độ ăn. Gia súc được cho ăn thức ăn ủ chua cỏ – sainfoin (hỗn hợp của Zeus và Esparcette) hoặc cừu được chăn thả trên những cây lá lớn ('Maku') năng lượng được phân chia theo hướng tổng hợp protein, thay vì tổng hợp lipid, so với cỏ-ngô (*Zea mays* L.) Chế độ ăn cỏ ba lá trắng, tương ứng (Huyen và cs., 2016a). Cho bò sữa ăn thức ăn viên cây sainfoin làm giảm nồng độ urê trong sữa và trong máu so với cỏ linh lăng và thức ăn viên cây chân chim (Girard và cs., 2016b; Grosse Brinkhaus và cs., 2016) vì giảm sự phân giải protein trong dạ cỏ và hấp thụ amoniac.

Chế độ ăn có cây Sainfoin và cây chân chim làm giảm quá trình hydro hóa sinh học của vi khuẩn trong dạ cỏ, tăng hàm lượng axit béo không bão hòa trong sữa, pho mát và các sản phẩm thịt, đồng thời giảm indole và skatole trong thịt cừu (Girard và cs., 2016a, 2016b; Huyen, 2016; Huyen và cs., 2016a). Skatole và indole có liên quan đến mùi vị đặc trưng của các sản phẩm chăn nuôi trên đồng cỏ và có nguồn gốc từ sự phân hủy axit amin bởi *Clostridium aminophilum* (Attwood và cs., 2006), loài tương đối nhạy cảm với CT (Sivakumaran và cs., 2004). Gần đây hơn, Campidonico và cs. (2016) báo cáo rằng CT và polyphenol oxidase trong hỗn hợp ủ chua cỏ ba lá đỏ-sainfoin tạo ra hiệu ứng phụ gia làm tăng hàm lượng axit béo không bão hòa của cừu so với chế độ ăn thuần cỏ.

Ảnh hưởng đến phát thải nitơ và mêtan

Giảm nitơ trong nước tiểu và tăng thải nitơ qua phân đường như là hậu quả phổ biến của chế độ ăn CT cho gia súc nhai lại và rất quan trọng vì tỷ lệ nitơ bị mất từ nước tiểu nhiều hơn so với phân. Do đó, CT có thể cải thiện tình trạng nitơ trong đất, giảm lượng khí thải ôxít nitơ (N_2O) gây hiệu ứng nhà kính, và làm giảm lượng nitơ rò rỉ vào đường nước và mạch nước ngầm (Kingston - Smith và cs., 2010; Theodoridou và cs., 2010). Sự chuyển đổi từ nitơ trong nước tiểu sang phân có thể làm giảm 25% lượng nitơ thất thoát và tiết kiệm được lượng phân nitơ dựa trên các ước tính sơ bộ từ mô hình hệ thống trang trại tích hợp cho các trang trại bò sữa (Zeller và Grabber, 2015). Rõ ràng là CT có thể mang lại những lợi ích quan trọng cho chăn nuôi gia súc nhai lại; tuy nhiên, nồng độ CT trong thức ăn cao hoặc với các đặc điểm thành phần dinh dưỡng không phù hợp sẽ làm giảm quá trình tiêu hóa và sử dụng protein

trong khẩu phần cũng như sự hấp thụ các axit amin thiết yếu của động vật nhai lại (Min và cs., 2003). Thách thức là xác định những đặc điểm CT nào có thể tốt nhất để tăng cường sử dụng protein trong khẩu phần để cải thiện sản xuất vật nuôi, tính bền vững về môi trường và lợi nhuận cho nông dân.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu liên ngành là cần thiết để phát triển thức ăn chăn nuôi mới với các đặc điểm CT mong muốn và hoạt tính sinh học, và nó đòi hỏi đầu vào được phối hợp tốt từ các nhà khoa học thực vật, nhà hóa học, nhà dinh dưỡng động vật và nhà ký sinh trùng. Những hợp tác như vậy đã thành công trong việc xác định sự biến đổi lớn trong các đặc điểm CT và các tác động dinh dưỡng và ký sinh trùng của chúng được chứng minh qua các nghiên cứu *in vitro* trên mầm của cây sainfoin và cây chân chim phát triển ở vùng khí hậu ôn đới. Sự biến đổi như vậy cũng có thể tồn tại ở các loài khác. Sẽ là kịp thời để khám phá những kết quả *in vitro* này bằng cách cho thức ăn gia súc cây họ đậu với các đặc điểm CT khác nhau để phát triển các mục tiêu và công cụ mạnh mẽ cho nhân giống cây trồng.

Các nghiên cứu trong phòng thí nghiệm đã thăm dò tác động của nồng độ CT, kích thước polyme và tỷ lệ PC / PD lên quá trình lên men của động vật nhai lại và tác dụng chống ký sinh trùng. Đã đến lúc thử nghiệm cho ăn với những thức ăn được chọn có thành phần dinh dưỡng tương tự nhưng các đặc điểm CT khác nhau để kiểm tra các kết quả *in vitro* này và thiết lập các hiệu ứng dinh dưỡng và chống ký sinh trùng *in vivo* liên quan đến các đặc điểm CT tương phản. Điều này cũng sẽ yêu cầu so sánh các loại thức ăn gia súc đã được chăn thả hoặc chế biến thành cỏ khô, thức ăn viên hoặc ủ chua, vì CT trở nên ít chiết xuất hơn khi chế biến, nhưng các cơ chế cơ bản và ý nghĩa sinh học của những thay đổi này vẫn chưa được khám phá. Những nghiên cứu như vậy sẽ giúp tối ưu hóa việc sử dụng protein trong khẩu phần và phân vùng năng lượng và giảm tác động của môi trường đối với chăn nuôi. Các nhà sản xuất cũng như người tiêu dùng đều đang tìm kiếm những đổi mới bền vững để sản xuất thực phẩm chất lượng cao có lợi nhuận trong khi vẫn duy trì độ phì nhiêu của đất và chất lượng môi trường của chúng ta.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Athanasiadou, S., Githiori, J. and Kyriazakis, I. 2007. Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. *Animal* 1, pp. 1392–1400
- Attwood, G., Li, D., Pacheco, D. and Tavendale, M. 2006. Production of indolic compounds by rumen bacteria isolated from grazing ruminants. *J. Appl. Microbiol.* 100, pp. 1261–1271. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02896.x
- Azuhnwi, B.N., Boller, B., Dohme-Meier, F., Hess, H.D., Kreuzer, M., Stringano, E. and Mueller-Harvey, I. 2013a. Exploring variation in proanthocyanidin composition and content of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *J. Sci. Food Agric.* 93:, pp. 2102–2109. doi:10.1002/jsfa.6119
- Bee, G., Silacci, P., Ampuero-Kragten, S., Čandek-Potokar, M., Wealleans, A.L., Litten-Brown, J. and Salminen, J. P. and Mueller-Harvey, I. 2017. Hydrolysable tannin-based diet rich in gallotannins has a minimal impact on pig performance but significantly reduces salivary and bulbo-urethral gland size. *Animal* 11, pp. 1617–1625. doi:10.1017/S1751731116002597
- Brown, R.H., Mueller-Harvey, I., Zeller, W.E., Reinhardt, L., Stringano, E., Gea, A. et al. 2017. Facile purification of milligram to gram quantities of condensed tannins according to mean degree of polymerization and flavan-3-ol subunit composition. *J. Agric. Food Chem.* 65, pp. 8072–8082. doi:10.1021/acs.jafc.7b03489
- Brunet, S., Fourquaux, I. and Hoste, H. 2011. Ultrastructural changes in the third-stage, infective larvae of ruminant nematodes treated with sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract. *Parasitol. Int.* 60, pp. 419–424. doi:10.1016/j.parint.2010.09.011

- Campidonico, L., Toral, P.G., Priolo, A., Luciano, G., Valenti, B., Hervás, G. et al. 2016. Fatty acid composition of ruminal digesta and longissimus muscle from lambs fed silage mixtures including red clover, sainfoin, and timothy. *J. Anim. Sci.* 94, pp. 1550 – 1560. doi:10.2527/jas.2015-9922
- Cheynier, V., Bomte, G., Davies, K.M., Lattanzio, V. and Martens, S. 2013. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics and ecophysiology. *Plant Physiol. Biochem.* 72, pp. 1– 20. doi:10.1016/j.plaphy.2013.05.009
- Cheynier, V., Tomas-Barberan, F.A. and Yoshida, K. 2015. Polyphenols: From plants to a variety of food and nonfood uses. *J. Agric. Food Chem.* 63, pp. 7589– 7594. doi:10.1021/acs.jafc.5b01173
- Chezem, W.R. and Clay, N.K. 2016. Regulation of plant secondary metabolism and associated specialized cell development by MYBs and bHLHs. *Phytochemistry* 131, pp. 26– 43. doi:10.1016/j.phytochem.2016.08.006
- Cooper, S.M., Owen-Smith, N. and Bryant, J.P. 1988. Foliage acceptability to browsing ruminants in relation to seasonal changes in the leaf chemistry of woody plants in a South African savanna. *Oecologia* 75, pp. 336– 342. <http://doi.org/10.1007/BF00376934>
- Desrues, O., Fryganas, C., Ropiak, H.M., Mueller-Harvey, I., Enemark, H.L. and Thamsborg, S.M. 2016a. Impact of chemical structure of flavanol monomers and condensed tannins on in vitro anthelmintic activity against bovine nematodes. *Parasitology* 143, pp. 444– 454. doi:10.1017/S0031182015001912
- Desrues, O., Mueller-Harvey, I., Pellikaan, W.F., Enemark, H.L. and Thamsborg, S.M. 2017. Condensed tannins in the gastrointestinal tract of cattle after sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) intake and their possible relationship with anthelmintic effects. *J. Agric. Food Chem.* 65, pp. 1420– 1427. doi:10.1021/acs.jafc.6b05830
- Desrues, O., Peña-Espinoza, M., Hansen, T.V.A., Enemark, H.L. and Thamsborg, S.M. 2016b. Anti-parasitic activity of pelleted sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) against *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* in calves. *Parasit. Vectors* 9: 329. doi:10.1186/s13071-016-1617-z
- Dobrev, M.A., Stringano, E., Frazier, R.A., Green, R.J. and Mueller-Harvey, I. 2012. Interaction of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) condensed tannins and proteins. In: V. Lattanzio, N. Mulinacci, P. Pinelli and A. Romani, editors, *Proceedings of the 26th International Conference on Polyphenols*, Florence, Italy. 23–26 Jul 2012. Stabilimento Grafico Rindi, Prato, Italy. pp. 151– 152.
- Engström, M.T., Karonen, M., Ahern, J.R., Baert, N., Payré, B., Hoste, H. and Salminen, J.-P. 2016. Chemical structures of plant hydrolyzable tannins reveal their in vitro activity against egg hatching and motility of *Haemonchus contortus* nematodes. *J. Agric. Food Chem.* 64, pp. 840– 851. doi:10.1021/acs.jafc.5b05691
- Escaray, F.J., Passeri, V., Babuin, F.M., Marco, F., Carrasco, P., Damiani, F. et al. 2014. *Lotus tenuis* × *L. corniculatus* interspecific hybridization as a means to breed bloat-safe pastures and gain insight into the genetic control of proanthocyanidin biosynthesis in legumes. *BMC Plant Biol.* 14: 40. doi:10.1186/1471-2229-14-40
- Gea, A., Stringano, E., Brown, R.H. and Mueller-Harvey, I. 2011. In situ analysis and structural elucidation of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) tannins for high throughput germplasm screening. *J. Agric. Food Chem.* 59, pp. 495– 503. doi:10.1021/jf103609p
- Girard, M., Dohme-Meier, F., Silacci, P., Ampuero Kragten, S., Kreuzer, M. and Bee, G. 2016a. Forage legumes rich in condensed tannins may increase n-3 fatty acid levels and sensory quality of lamb meat. *J. Sci. Food Agric.* 96, pp. 1923– 1933. doi:10.1002/jsfa.7298
- Girard, M., Dohme-Meier, F., Wechsler, D., Goy, D., Kreuzer, M. and Bee, G. 2016b. Ability of 3 tanniferous forage legumes to modify quality of milk and Gruyère-type cheese. *J. Dairy Sci.* 99, pp. 205– 220. doi:10.3168/jds.2015-9952
- Givens, D.I., Owen, E. and Adesogan, A.T. 2000. Current procedures, future requirements and the need for standardisation. In: D.I. Givens, E. Owen, R.F.E. Axford and H. Omed, editors, *Forage evaluation in ruminant nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 449– 474. doi:10.1079/9780851993447.0449

- Grabber, J., Zeller, W.E. and Mueller-Harvey, I. 2013. Acetone enhances the direct analysis of procyanidin- and prodelphinidin-based condensed tannins in Lotus species by the butanol-HCl-iron assay. *J. Agric. Food Chem.* 61, pp. 2669– 2678. doi:10.1021/jf304158m
- Grabber, J.H., Coblenz, W.K., Riday, H., Griggs, T.C., Min, D.H., MacAdam, J.W. and Cassida, K.A. 2015. Protein and dry-matter degradability of European- and Mediterranean-derived birdsfoot trefoil cultivars grown in the colder continental USA. *Crop Sci.* 55, pp. 1356– 1364. doi:10.2135/cropsci2014.09.0659
- Grosse Brinkhaus, A., Bee, G., Silacci, P., Kreuzer, M. and Dohme-Meier, F. 2016. Effect of exchanging *Onobrychis viciifolia* and *Lotus corniculatus* for *Medicago sativa* on ruminal fermentation and nitrogen turnover in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99, pp. 4384– 4397. doi:10.3168/jds.2015-9911
- Grosse Brinkhaus, A., Wyss, U., Arrigo, Y., Girard, M., Bee, G., Zeitz, J.O. et al. 2017. In vitro ruminal fermentation characteristics and utilisable crude protein supply of sainfoin and birdsfoot trefoil silages and their mixtures with other legumes. *Animal* 11, pp. 580– 590. doi:10.1017/S1751731116001816
- Guyot, S., Marnet, N. and Drilleau, J.-F. 2001a. Thiolytic-HPLC characterization of apple procyanidins covering a large range of polymerization states. *J. Agric. Food Chem.* 49, pp. 14– 20. doi:10.1021/jf000814z
- Hagerman, A.E. and Butler, L.G. 1981. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *J. Biol. Chem.* 256, pp. 4444– 4497.
- Hammond, K.J., Burke, J.L., Koolgaard, J.P., Muetzel, S., Pinares-Patiño, C.S. and Waghorn, G.C. 2013. Effects of feed intake on enteric methane emissions from sheep fed fresh white clover (*Trifolium repens*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*) forages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 179: 121– 132. doi:10.1016/j.anifeeds.2012.11.004
- Hansen, T.V.A., Fryganas, C., Acevedo, N., Carballo, L.R., Thamsborg, S.M., Mueller-Harvey, I. and Williams, A.R. 2016. Proanthocyanidins inhibit *Ascaris suum* glutathione-S-transferase activity and increase susceptibility of larvae to levamisole in vitro. *Parasitol. Int.* 65, pp. 336– 339. doi:10.1016/j.parint.2016.04.001
- Hayot Carbonero, C. 2011. Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*), a forage legume with great potential for sustainable agriculture, an insight on its morphological, agronomical, cytological and genetic characterisation. Ph.D. diss., Manchester, UK. <https://www.escholar.manchester.ac.uk/api/datastream?publicationPid=uk-ac-man-scw:120238&datastreamId=FULL-TEXT.PDF> (accessed 18 Nov. 2017).
- Hellström, J.K. and P.H. Mattila. 2008. HPLC determination of extractable and unextractable proanthocyanidins in plant materials. *J. Agric. Food Chem.* 56, pp. 7617– 7624. doi:10.1021/jf801336s
- Hixson, J.L., Jacobs, J.L., Wilkes, E.N. and Smith, P.A. 2016. Survey of the variation in grape marc condensed tannin composition and concentration and analysis of key compositional factors. *J. Agric. Food Chem.* 64, pp. 7076– 7086. doi:10.1021/acs.jafc.6b03126
- Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, S.M. and Hoskin, S.O. 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol.* 22, pp. 253–261.
- Hoste, H., Torres-Acosta, J.F., Alonso-Díaz, M.A., Brunet, S., SandovalCastro, C. and Houzangbe-Adote, S., 2008. Identification and validation of bioactive plants for the control of gastrointestinal nematodes in small ruminants. *Tropical Biomedicine.* 25, pp. 56–72.
- Hoste, H., Martinez-Ortiz-De-Montellano, C., Manolaraki, F., Brunet, S., Ojeda-Robertos, N., Fourquaux, I. et al. 2012. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Vet. Parasitol.* 186, pp. 18– 27. doi:10.1016/j.vetpar.2011.11.042
- Hoste, H., Torres-Acosta, J.F.J., Quijada, J., Chan-Perez, I., Dakheel, M.M., Kommuru, D.S. et al. 2016. Interactions between nutrition and infections with *Haemonchus contortus* and related gastrointestinal nematodes in small ruminants. In: R.B. Gasser and G. Samson-Himmelstjerna, editors, *Advances in parasitology*. Vol. 93. *Haemonchus contortus* and *Haemonchosis*: Past, present and future trends. Academic Press, New York. pp. 239– 351.

- Hoste, H., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Mueller-Harvey, I., Sotiraki, S., Louvandini, H. et al. 2015. Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Vet. Parasitol.* 212, pp. 5– 17. doi:10.1016/j.vetpar.2015.06.026
- Huyen, N.T. 2016. Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*): A forgotten crop for dairy cows with future potential. Ph.D. diss., Wageningen Univ., Wageningen, the Netherlands.
- Huyen, N.T., Desrues, O., Alferink, S.J.J., Zandstra, T., Verstegen, M.W.A., Hendriks, W.H. and Pellikaan, W.F. 2016a. Inclusion of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage in dairy cow rations affects nutrient digestibility, nitrogen utilization, energy balance, and methane emissions. *J. Dairy Sci.* 99, pp. 3566– 3577. doi:10.3168/jds.2015-10583
- Iason, G.R., Hartley, S.E. and Duncan, A.J. 1993. Chemical composition of *Calluna vulgaris* (Ericaceae): do responses to fertilizer vary with phenological stage?. *Biochemical Systematics and Ecology.* 21, pp. 315- 321
- Jones, W.T. and 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. *J. Sci. Food Agric.* 28, pp. 126– 136. doi:10.1002/jsfa.2740280204
- Kariuki, I.W. and Norton, B.W. 2008. The digestion of dietary protein bound by condensed tannins in the gastro-intestinal tract of sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 142, pp. 197– 209. doi:10.1016/j.anifeeds.2007.08.006
- Kingston-Smith, A.H., Edwards, J.E., Huws, S.A., Kim, E.J. and Abberton, M. 2010. Plant-based strategies towards minimising ‘livestock’s long shadow’. *Proc Nutr. Soc.* 69, pp. 613– 620. doi:10.1017/S0029665110001953
- Klongsiriwet, C., 2016. Phytochemical analysis of a willow germplasm collection and its pharmacological activities. PhD diss., Univ. of Reading, Reading, UK.
- Kommuru, D.S., Barker, T., Desai, S., Burke, J.M., Ramsay, A. And Mueller-Harvey, I. et al. 2014. Use of pelleted sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata*) for natural control of coccidia and gastrointestinal nematodes in weaned goats. *Vet. Parasitol.* 204, pp. 191– 198. doi:10.1016/j.vetpar.2014.04.017
- Kommuru, D.S., Whitley, N.C., Miller, J.E., Mosjidis, J.A., Burke, J.M., Gujja, S. et al. 2015. Effect of sericea lespedeza leaf meal pellets on adult female *Haemonchus contortus* in goats. *Vet. Parasitol.* 207, pp. 170– 175. doi:10.1016/j.vetpar.2014.11.008
- Laaksonen, O.A., Salminen, J.-P., Makila, L., Kallio, H.P. and Yang, B. 2015. Proanthocyanidins and their contribution to sensory attributes of black currant juices. *J. Agric. Food Chem.* 63, pp. 5373– 5380. doi:10.1021/acs.jafc.5b01287
- Li, C., Leverence, R., Trombley, J.D., Xu, S., Yang, J., Tian, Y. et al. 2010. High molecular weight persimmon (*Diospyros kaki* L.) proanthocyanidin: A highly galloylated, A-linked tannin with an unusual flavonol terminal unit, myricetin. *J. Agric. Food Chem.* 58, pp. 9033– 9042. doi:10.1021/jf102552b
- Li, M., and Hagerman, A.E. 2013. Interactions between plasma proteins and naturally occurring polyphenols. *Curr. Drug Metab.* 14, pp. 432– 445. doi:10.2174/1389200211314040006
- MacAdam, J.W. and Villalba, J.J. 2015. Beneficial effects of temperate forage legumes that contain condensed tannins. *Agriculture* 5, pp. 475– 491. doi:10.3390/agriculture5030475
- Malisch, C.S., Salminen, J.-P., Kölliker, R., Engström, M.T., Suter, D., Studer, B. and Lüscher, A. 2016. Drought effects on proanthocyanidins in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) are dependent on the plant’s ontogenetic stage. *J. Agric. Food Chem.* 64, pp. 9307– 9316. doi:10.1021/acs.jafc.6b02342
- Manolaraki, F. 2011. Propriétés anthelminthiques du sainfoin (*Onobrychis viciifoliae*): Analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués. (In French.) Ph.D. diss., Univ. of Toulouse, Toulouse, France. <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00001566/01/manolaraki.pdf> (accessed 30 Sept. 2017).

- Martínez-Ortiz-de-Montellano, C., Arroyo-López, C., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A. and Hoste, H. 2013. Scanning electron microscopy of *Haemonchus contortus* exposed to tannin-rich plants under in vivo and in vitro conditions. *Exp. Parasitol.* 133, pp. 281– 286. doi:10.1016/j.exppara.2012.11.024
- McCaslin, M., Reisen, P. and Ho, J. 2014. New strategies for forage quality improvement in alfalfa. In: Proceedings of the 2014 California Alfalfa, Forage, and Grain Symposium, Long Beach, CA, 10–12 Dec. 2014. Univ. of California Coop. Ext., Plant Sci. Dep., Univ. of California, Davis, CA. http://alfalfa.ucdavis.edu/+symposium/proceedings/2014/14CAS07_McCaslin_AlfalfaImprovement.pdf (accessed 30 Sept. 2017).
- Mena, P., Calani, L., Bruni, R. and Del Rio, D. 2015. Bioactivation of high-molecular-weight polyphenols by the gut microbiome. In: K.T.D. Rio, editor, *Diet-microbe interactions in the gut*. Academic Press, San Diego, CA. pp. 73– 101. doi:10.1016/B978-0-12-407825-3.00006-X
- Mengistu, G., Hoste, H., Karonen, M., Salminen, J.-P., Hendriks, W.H. and Pellikaan, W.F. 2017. The in vitro anthelmintic properties of browse plant species against *Haemonchus contortus* is determined by the polyphenol content and composition. *Vet. Parasitol.* 237, pp. 110– 116. doi:10.1016/j.vetpar.2016.12.020
- Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T. and McNabb, W.C. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106, pp. 3– 19. doi:10.1016/S0377-8401(03)00041-5
- Mueller-Harvey, I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.* 86, pp. 2010– 2037. <http://doi.org/10.1002/jsfa.2577>
- Muir, J.P., Terrill, T.H., Mosjidis, J.A., Luginbuhl, J.-M., Miller, J.E. and Burke, J.M. 2017. Season progression, ontogenesis and environment affect *Lespedeza cuneata* herbage condensed tannin, fiber and crude protein content. *Crop Sci.* 57, pp. 515– 524. doi:10.2135/cropsci2016.07.0605
- Niezen, J.H., Charleston, W.A.G., Robertson, H.A., Shelton, D., Waghorn, G.C. and Green, R. 2002. The effect of feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) or lucerne (*Medicago sativa*) on lamb parasite burdens and development of immunity to gastro intestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 105, pp. 229– 245. doi:10.1016/S0304-4017(02)00014-6
- Pagán-Riestra, S., Muir, J.P., Lambert, B.D., Tedeschi, L.O. and Redmon, L. 2010. Phosphorus and other nutrient disappearance from plants containing condensed tannins using the nylon bag technique. *Anim. Feed Sci. Technol.* 156, pp. 19– 25. doi:10.1016/j.anifeedsci.2009.12.006
- Quijada, J., Drake, C., Gaudin, E., El-Korso, R., Hoste, H. and Mueller-Harvey, I. 2018. Condensed tannin changes along the digestive tract in lambs fed with sainfoin pellets or hazelnut skins. *J. Agric. Food Chem.* (in press). doi:10.1021/acs.jafc.7b05538
- Ramírez-Restrepo, C.A., Pernthaner, A., Barry, T.N., López-Villalobos, N., Shaw, R.J., Pomroy, W.E. and Hein, W.R. 2010. Characterization of immune responses against gastrointestinal nematodes in weaned lambs grazing willow fodder blocks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 155, pp. 99– 110. doi:10.1016/j.anifeedsci.2009.10.006
- Ramsay, A., Drake, C., Grosse Brinkhaus, A., Girard, M., Dohme-Meier, F. Bee, G. et al. 2015. NaOH enhances extractability and analysis of proanthocyanidins in ensiled sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *J. Agric. Food Chem.* 63, pp. 9471– 9479. doi:10.1021/acs.jafc.5b04106
- Ropiak, H.M., Lachmann, P., Ramsay, A., Green, R.J. and Mueller-Harvey, I. 2017. Identification of structural features of condensed tannins that affect protein aggregation. *PLoS One* 12:e0170768. doi:10.1371/journal.pone.0170768
- Ropiak, H.M., Ramsay, A. and Mueller-Harvey, I. 2016. Condensed tannins in extracts from European medicinal plants and herbal products. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 121, pp. 225– 231. doi:10.1016/j.jpba.2015.12.034
- Salminen, J.-P. and Karonen, M. 2011. Chemical ecology of tannins and other phenolics: We need a change in approach. *Funct. Ecol.* 25, pp. 325– 338. doi:10.1111/j.1365-2435.2010.01826.x

- Saratsis, A., Voutzourakis, N., Theodosiou, T., Stefanakis, A. and Sotiraki, S. 2016. The effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and carob pods (*Ceratonia siliqua*) feeding regimes on the control of lamb coccidiosis. *Parasitol. Res.* 115, pp. 2233– 2242. doi:10.1007/s00436-016-4966-9
- Scioneaux, A.N., Schmidt, M.A., Moore, M.A., Lindroth, R.L., Wooley, S.C. and Hagerman, A.E. 2011. Qualitative variation in proanthocyanidin composition of *Populus* species and hybrids: Genetics is the key. *J. Chem. Ecol.* 37, pp. 57– 70. doi:10.1007/s10886-010-9887-y
- Sivakumaran, S., Molan, A.L., Meagher, L.P., Kolb, B., Foo, L.Y., Lane, G.A. et al. 2004. Variation in antimicrobial action of proanthocyanidins from *Dorycnium rectum* against rumen bacteria. *Phytochemistry* 65, pp. 2485– 2497. doi:10.1016/j.phytochem.2004.08.046
- Springer, T.L., McGraw, R.L. and Aiken, G.E. 2002. Variation of condensed tannins in roundhead lespedeza germplasm. *Crop Sci.* 42, pp. 2157– 2160. doi:10.2135/cropsci2002.2157
- Terrill, T.H., Rowan, A.M., Dougla, G.B. and Barry, T.N. 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, pp. 321-329
- Terrill, T.H., Miller, J.E., Burke, J.M., Mosjidis, J.A. and Kaplan, R.M. 2012. Experiences with integrated concepts for the control of *Haemonchus contortus* in sheep and goats in the United States. *Vet. Parasitol.* 186, pp. 28– 37. doi:10.1016/j.vetpar.2011.11.043
- Terrill, T.H., Griffin, E., Kommuru, D.S., Miller, J.E., Mosjidis, J.A., Kearney, M.T. and Burke, J.M. 2016. Effect of ensiling on anti-parasitic properties of sericea lespedeza. *Am. Forage Grassl. Counc., Berea, KY.* <http://www.afgc.org/proceedings/2016/TerrillAFGCpaper.pdf> (accessed 30 Sept. 2017).
- Theodoridou, K., Aufrère, J., Andueza, D., Pourrat, J., Le Morvan, A., Stringano, E. et al. 2010. Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 160, pp. 23– 38. doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.06.007
- Tibe, O., Pernthaner, A., Sutherland, I., Lesperance, L. and Harding, D.R.K. 2012. Condensed tannins from Botswanan forage plants are effective priming agents of $\gamma\delta$ T cells in ruminants. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 146, pp. 237– 244. doi:10.1016/j.vetimm.2012.03.003
- Tyrrell, H.F. and Moe, P.W. 1975. Effect of intake on digestive efficiency. *J. Dairy Sci.* 58, pp. 1151– 1163. doi:10.3168/jds.S0022-0302(75)84694-7
- Waghorn, G. 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production: Progress and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147, pp. 116– 139. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.09.013
- Williams, A.R., Frygas, C., Ramsay, A., Mueller-Harvey, I., and Thamsborg, S.M. 2014a. Direct anthelmintic effects of condensed tannins from diverse plant sources against *Ascaris suum*. *PLoS One* 9:e97053. doi:10.1371/journal.pone.0097053 [erratum: 9:e99738.]
- Williams, A.R., Frygas, C., Reichwald, K., Skov, S. and Mueller-Harvey, I., and Thamsborg, S.M. 2016. Polymerization-dependent activation of porcine $\gamma\delta$ T-cells by proanthocyanidins. *Res. Vet. Sci.* 105, pp. 209– 215. doi:10.1016/j.rvsc.2016.02.021
- Williams, A.R., Klaver, E.J., Laan, L.C., Ramsay, A., Frygas, C., Difborg, R. et al. 2017. Co-operative suppression of inflammatory responses in human dendritic cells by proanthocyanidins and products from the parasitic nematode *Trichuris suis*. *Immunology* 150, pp. 312– 328. doi:10.1111/imm.12687
- Zeller, W.E. 2019. Activity, purification, and analysis of condensed tannins: Current state of affairs and future endeavors. *Crop Sci.* (in review).
- Zeller, W.E. and Grabber, J.H. 2015. Redesigning forages with condensed tannins. *Progressive Forage Grower* 16: 7– 8.
- Zeller, W.E., Ramsay, A., Ropiak, H.M., Frygas, C., Mueller-Harvey, I., Brown, R.H. et al. 2015a. 1H-13C HSQC NMR spectroscopy for estimating procyanidin/prodelphinidin and cis/trans flavanol ratios of

condensed tannin fractions: Correlation with thiolysis. *J. Agric. Food Chem.* 63, pp. 1967– 1973. doi:10.1021/jf504743b

Zeller, W.E., Sullivan, M.L., Mueller-Harvey, I., Grabber, J.H., Ramsay, A., Drake, C. and Brown, R.H. 2015b. Protein precipitation behavior of condensed tannins from *Lotus pedunculatus* and *Trifolium repens* with different mean degrees of polymerization. *J. Agric. Food Chem.* 63, pp. 1160– 1168. doi:10.1021/jf504715p

Zhou, M., Wei, L., Sun, Z., Gao, L., Meng, Y., Tang, Y. and Wu, Y. 2015. Production and transcriptional regulation of proanthocyanidin biosynthesis in forage legumes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99, pp. 3797– 3806. doi:10.1007/s00253-015-6533-1

Zhu, Q., Sui, S., Lei, X., Yang, Z., Lu, K., Liu, G. et al. 2015. Ectopic expression of the *Coleus R2R3 MYB*-type proanthocyanidin regulator gene *SsMYB3* alters the flower color in transgenic tobacco. *PLoS One* 10:e0139392. doi:10.1371/journal.pone.0139392

ABSTRACT

Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants

Tannin (tannic acid) belongs to the group of polyphenols, is a compound with a complex structure and is divided into 2 groups of hydrolyzed tannins and concentrated tannins (CT). Tannins (polyphenols) are present in most plants and are abundant in coffee, tea, grapes, licorice, berries, chestnuts, legumes, etc. Depending on the plant source, the composition and structure of tannins are also different very big difference. Beneficial animal responses to tannin concentrates when concentrations are consistent are improved growth, milk production, fertility, and reduced methane emissions and ammonia volatilization from feces or urine. Most important is the forage's ability to resist the effects of parasitic roundworms in the digestive tract. Animal responses were variable to tannin concentrates, which were initially attributed to dietary CT concentrations, but recent research has highlighted the importance of their molecular structure, as well as their concentrations, and also composition of diets containing concentrated tannins. The importance of CT structural features cannot be underestimated. Interdisciplinary research is key to elucidating the relationship between CT characteristics and biological activities and will allow for better exploitation of these natural plant compounds in livestock farms. Research is also needed to provide plant breeders with guidance and as a screening tool to optimize CT traits in forage and livestock diets. In addition, there is a need to improve the competitiveness and agronomic profile of legume-containing tannin concentrates and the understanding of options for inclusion in ruminant diets. This review includes recent results from the multidisciplinary study of sainfoin (*Onobrychis* Mill. Spp.) and provides an overview of current developments with several forages, particularly especially legumes.

Keywords: *Concentrated tannins, legumes, feed, ruminants.*

Ngày nhận bài: 06/5/2021

Ngày chấp nhận đăng: 29/6/2021