

Puna-apilasäilörehujen sulavuuden määrittäminen laboratoriomenetelmin

Kaisa Kuoppala¹⁾, Marketta Rinne¹⁾, Mikko Tuori²⁾, Pirjo Pursiainen²⁾ ja Aila Vanhatalo²⁾

¹⁾ MTT Kotieläintuotannon tutkimus, Eläinravitseminen, 31600 Jokioinen

²⁾ Helsingin yliopisto, Kotieläintieteen laitos, PL 28, 00014 Helsingin yliopisto

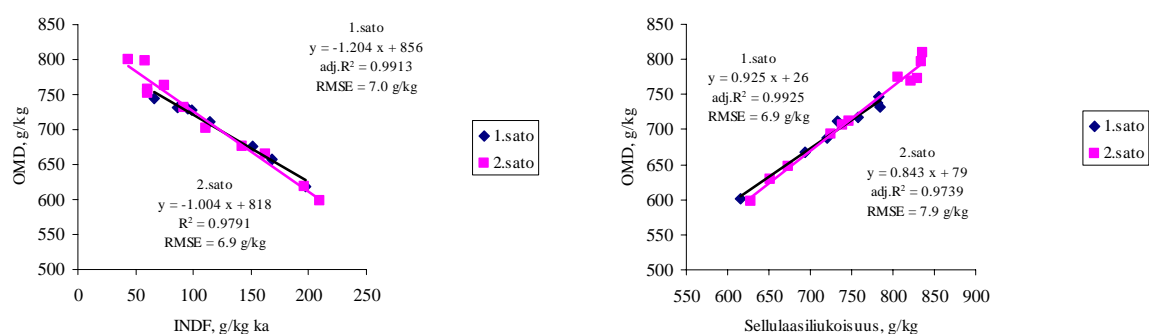
Tiivistelmä

Nurmirehujen energia-arvo eli sulavuus vaihtelee huomattavasti. Tärkein sulavuuteen vaikuttava tekijä on kasvin kehitysvaihe korjuuhetkellä, mutta siihen vaikuttavat lisäksi mm. kasvilaji ja korjuutapa. Nurmirehujen sulavuuden luotettava arviointi on tärkeää taloudellisesti ja ravitsemuksellisesti järkevän karjanruokinnan suunnittelun pohjaksi. Korjuuajatutkimukset on tehty pääasiassa nurmiheinäkasveilla, joista meillä yleisimmin ovat käytössä timotei ja nurminata. Sen sijaan puna-apilaa, joka Suomen olosuhteissa on nurmipalkokasveista tärkein säilörehukasvi, on tutkittu huomattavasti vähemmän. Puna-apilan kasvurytmi on erilainen kuin heinäkasvien ja se poikkeaa niistä myös kemialliselta koostumukseltaan.

Tässä tutkimuksessa arvioitiin nykyisin käytössä olevien analyysimenetelmien potentiaalia ennustaa puna-apilasäilörehun sulavuutta. Tarkoituksena oli selvittää kemiallisen koostumuksen (NDF, ADF, raakavalkuainen, ligniini) ja entsyymaattisten analyysien eli pepsiini-sellulaasiliukoisuuden (OMS) ja sulamattoman kuidun (INDF) yhteyttä eläimillä määritettyyn orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuteen (OMD) puna-apilan ensimmäisessä ja toisessa sadossa.

Tutkimusaineisto käsittää 19 puna-apilasäilörehua neljästä eri sulavuuskokeesta, jotka on tehty vuosina 2002-2004 HY:n Kotieläintieteen laitoksella ja MTT:n Eläinravitsemuksen tutkimusalalla. Säilörehujen orgaanisen aineen *in vivo* sulavuus (OMD) määritettiin ylläpitoruokintatasolla olevilla päseillä tehdyissä sulavuuskokeissa sonnan kokonaiskeruumenetelmällä. Eri laboratoriomenetelmien soveltuvuutta OMD:n ennustamiseen tutkittiin lineaarisella regressioanalyysillä, jossa koepaikka oli satunnaistekijänä.

Parhaiten *in vivo* sulavuuden ennusti INDF (RMSE 12,1 g/kg ja R^2 0,959) ja toiseksi parhaiten sellulaasiliukoisuus (RMSE 12,9 g/kg ja R^2 0,951). Kemiallisten analyysien ennustevirheet olivat huomattavasti suuremmat ja selitysasteet pienemmät kuin INDF:n tai sellulaasiliukoisuuden. Puhtaasta puna-apilakasvustosta tehdyn säilörehun orgaanisen aineen *in vivo* sulavuus voidaan ennustaa yhtälöillä: $OMD \text{ (g/kg)} = 837 - 1,109 \times INDF \text{ (g/kg ka)}$ tai $OMD \text{ (g/kg)} = 100 + 0,821 \times OMS \text{ (g/kg)}$.



Sulamattoman kuidun (INDF) ja pepsiini-sellulaasiliukoisuuden yhteys puna-apilan orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuteen (OMD) ensimmäisessä ja toisessa sadossa mixed regressiomallia käyttäen.

Asiasanat: säilörehu, puna-apila, sulavuus, sulamaton kuitu, pepsiini-sellulaasiliukoisuus

Johdanto

Nurmirehujen energia-arvo eli sulavuus vaihtelee huomattavasti. Tärkein sulavuuteen vaikuttava tekijä on kasvin kehitysvaihe korjuuhetkellä, mutta siihen vaikuttavat lisäksi mm. kasvilaji ja korjuutapa. Nurmirehujen sulavuuden luotettava arviointi on tärkeää taloudellisesti ja ravitsemuksellisesti järkevän karjanruokinnan suunnittelun pohjaksi. Korjuuaikatutkimukset on tehty pääasiassa nurmiheinäkasveilla, joista meillä yleisimmän ovat käytössä timotei ja nurminata. Sen sijaan puna-apilaa, joka Suomen olosuhteissa on nurmipalkokasveista tärkein säilörehukasvi, on tutkittu huomattavasti vähemmän. Puna-apilan kasvurytmi on erilainen kuin heinäkasvien ja se poikkeaa heinäkasveista myös kemialliselta koostumukseltaan.

Tässä tutkimuksessa arvioitiin nykyisin käytössä olevien laboratorioanalyysimenetelmien potentiaalia ennustaa puna-apilasäilörehun sulavuutta. Tarkoituksena oli selvittää kemiallisten ja entsymaattisten analyysien kuten pepsiini-sellulaasiliukoisuuden ja sulamattoman kuidun (INDF) yhteyttä eläimillä määritettyyn orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuteen puna-apilan ensimmäisessä ja toisessa sadossa. Tutkimus kuuluu MMM:n rahoittaman Luomututkimusohjelman projektiin ”Puna-apila tehokkaasti luomumaidoksi”.

Aineisto ja menetelmät

Tutkimusaineisto käsittää 19 puna-apilasäilörehua neljästä eri sulavuuskokeesta (taulukko 1). Alkuperäisestä aineistosta jouduttiin jättämään pois kaksi ensimmäisen sadon rehua ja yksi toisen sadon rehu kasvuston runsaan saunakukkapitoisuuden takia. Koepaikat ja -vuodet olivat: Siuntio v. 2002 (koe 1, Kuoppala ym. 2004), Jokioinen v. 2003 (koe 2), Vihti v. 2003 (koe 3) ja Helsinki v. 2004 (koe 4). Kokeissa oli käytössä kolme eri puna-apilalajiketta: Björn (koe 1), Jokioinen (kokeet 2 ja 3) sekä Varte (koe 4). Kaikki kasvustot olivat ensimmäisen satovuoden kasvustoja eikä niitä lannoitettu satovuonna. Säilörehut korjattiin eri kasvuvaiheissa sekä ensimmäisestä että toisesta sadosta. Kokeessa 1 säilörehut säilöttiin pyöröpaaleihin noin yhden vuorokauden esikuivatuksen jälkeen. Kokeessa 2 kasvusto niitettiin karholla, korjattiin tarkkuussilppurilla n. 4 tunnin esikuivatuksen jälkeen ja säilöttiin 3 m³:n koesiiloihin. Kokeessa 3 rehu korjattiin hienosilppurilla ja kuljetettiin Vihdistä välittömästi Viikkiin, jossa se säilöttiin 3 m³:n koesiiloihin. Kokeessa 4 säilörehut pyöröpaalattiin noin yhden vuorokauden esikuivatuksen jälkeen. Rehut säilöttiin kaikissa koepaikoissa käyttäen säilöntäaineena AIV2Plus-liuosta keskimäärin 5.8 l/t.

Säilörehujen orgaanisen aineen *in vivo* sulavuus (OMD) määritettiin ylläpitoruokintatasolla olevilla päseillä tehdyissä sulavuuskokeissa sonnan kokonaiskeruumenetelmällä MTT:n eläinravitsemuksella (kokeet 1 ja 2) ja HY:n Kotieläintieteen laitoksella (kokeet 3 ja 4). Kemialliset analyysit tehtiin joko MTT:n Eläinravitsemuksen tai HY:n Kotieläintieteen laitoksen laboratorioissa standardimenetelmin. Pepsiini-sellulaasiliukoisuus (OMS) tehtiin joko Valiolla Nousiaisen ym. (2003a) menetelmällä tai MTT:llä sen modifikaatiolla käyttäen *Trichoderma viriden* (Onozuka R-10, Yakulta Pharmaceutical Ltd, Japani) sellulaasientsyymiä. INDF-pitoisuus määritettiin MTT:ssä 12 vuorokauden nailonpussi-inkubaatiolla (pussien huokoskoko 17 µm) Ahvenjärven ym. (2001) mukaan.

Laboratoriomenetelmien ja orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuden välistä yhteyttä tutkittiin lineaarisella regressioanalyysillä. Mixed-malli analysoitiin SAS:n MIXED-proseduurilla niin, että koepaikka oli mallissa mukana satunnaistekijänä: $Y_{ijk} = A_0 + Paikka_i + B_1 X_{ij} + e_{ijk}$, missä A_0 on vakio (kiinteä tekijä), $Paikka_i$ on koepaikan satunnaisvaikutus, B_1 on regressiokerroin ja e_{ijk} on virhetermi. Vertailu tehtiin käyttämällä mallin selitystasetta ($Adj.R^2$) ja virhetermiä (Residual Mean Square Error, RMSE). Koepaikka sisältää kokeiden välisen vaihtelun (yhdeällä paikkakunnalla tehdyt säilörehut tutkittiin samassa kokeessa ja näytteet analysoitiin samalla kertaa samoissa laboratorioissa) lisäksi eri paikkakuntien erilaiset sääolot.

Tulokset ja tulosten tarkastelu

Säilörehujen kemiallinen koostumus ja sulavuus vaihtelivat odotetusti paljon (taulukko 1). INDF:n ja ligniinin osuus NDF:stä oli aineistossa keskimäärin 328 ja 120 g/kg. Ne ovat selvästi korkeammat kuin heinäkasveilla. Nousiaisen ym. (2004) heinäkasvisäilörehujen aineistossa vastaavat luvut olivat 157 ja 53. INDF:n osuus NDF:stä oli Kuoppalan ym. (2006) kokeessa puna-apilalla ja heinäkasveilla keskimäärin 243 ja 131 g/kg, Oltin ym. (2005) palkokasviaineistossa 328 g/kg ja Pursiaisen ym. (2006) puna-apilakokeen säilörehuissa 466 g/kg.

Taulukko 1. Tutkimusaineiston säilörehujen korjuupäivämäärät, kemiallinen koostumus, pepsiini-sellulaasiliukoisuus (OMS) ja orgaanisen aineen *in vivo* sulavuus (OMD).

Koe- paikka	Vuosi	Korj. pvm	Edell. korj. pvm	Sa- to	Kuiva- aine, g/kg	g/kg kuiva-ainetta						g/kg		
						Tuh- ka	RV	NDF	ADF	Lig- niini	ADL	INDF	OMS	<i>In vivo</i> OMD
Koe 1.														
Siuntio	2002	7.6.		1	332	120	220	286	196	30		58	836	790
Siuntio	2002	19.6.		1	224	111	190	346	236	38		99	782	719
Siuntio	2002	10.7.		1	232	99	146	482	343	76		196	652	610
Siuntio	2002	2.8.	7.6.	2	209	104	156	486	354	79		210	628	581
Siuntio	2002	2.8.	19.6.	2	202	116	188	399	270	49		114	733	695
Siuntio	2002	15.8.	10.7.	2	414	122	183	338	230	42		87	785	715
Koe 2.														
Jokioinen	2003	2.7.		1	191	103	200	344	241	33		75	806	758
Jokioinen	2003	16.7.		1	187	92	168	448	323	58		152	720	672
Jokioinen	2003	12.8.	2.7.	2	269	111	206	325	206	39		95	783	746
Jokioinen	2003	26.8.	2.7.	2	229	92	192	369	253	57		143	725	692
Jokioinen	2003	26.8.	16.7.	2	211	98	256	276	181	20		60	830	772
Jokioinen	2003	9.9.	16.7.	2	238	100	238	274	174	21		60	822	768
Koe 3.														
Vihti	2003	17.6.		1	211	91	198	254	146	24	11	44	834	777
Vihti	2003	22.8.	1.7.	2	249	84	202	300	156	36	19	92	739	710
Vihti	2003	9.9.	14.7.	2	256	95	230	259	133	22	15	66	758	722
Koe 4.														
Helsinki	2004	2.7.		1	183	81	160	400	277		34	163	674	700
Helsinki	2004	16.7.		1	224	90	158	387	281		39	197	616	655
Helsinki	2004	25.8.	2.7.	2	242	89	168	373	258		32	168	693	680
Helsinki	2004	25.8.	16.7.	2	193	102	194	322	223		21	111	747	725
<i>n</i>					19	19	19	19	19	15	7	19	19	19
Keskiarvo					237	100	192	351	236	42	24	115	746	710
SD					55,4	11,7	29,6	70,6	63,8	19,3	10,6	52,6	69,0	55,2
Minimi					183	81	146	254	133	20	11	44	616	581
Maksimi					414	122	256	486	354	79	39	210	836	790

Säilörehujen NDF-, ADF ja INDF-pitoisuudet olivat negatiivisessa ja raakavalkuainen ja sellulaasiliukoisuus positiivisessa yhteydessä orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuteen (taulukko 2). Parhaiten *in vivo* sulavuuden ennusti INDF ja toiseksi parhaiten sellulaasiliukoisuus. Tulos on yhdenmukainen Nousiainen ym. (2003b) heinäkasvisäilörehuaineiston tulosten kanssa, jossa INDF ennusti parhaiten orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuden. Sen sijaan Rinteen ym. (2005) palkokasviaineistossa, joka sisälsi osittain samojen puna-apilasäilörehujen lisäksi myös ulkomaisia puna-apila- ja sinimaillassäilörehuja sekä vuohenhernesäilörehuja, oli sellulaasiliukoisuus parempi sulavuuden ennustaja kuin INDF-pitoisuus.

Taulukko 2. Puna-apilasäilörehujen orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuden ennustaminen eri laboratoriomenetelmillä (n=19).

Muuttuja	Vakio A	S.E.	P-arvo	kerroin B	S.E.	P-arvo	RMSE	Adj.R ²
Raakavalkuainen	419	51,7	<0,0001	1,510	0,2662	<0,0001	33,9	0,634
NDF	969	24,9	<0,0001	-0,747	0,0696	<0,0001	20,8	0,864
ADF	913	20,8	<0,0001	-0,885	0,0851	<0,0001	23,0	0,856
Ligniini (n=15)	839	13,1	<0,0001	-3,032	0,2892	<0,0001	20,4	0,886
INDF	837	6,8	<0,0001	-1,109	0,0543	<0,0001	12,1	0,959
OMS ¹⁾	100	32,9	0,0074	0,821	0,0439	<0,0001	12,9	0,951

1) OMS = orgaanisen aineen pepsiini-sellulaasiliukoisuus

Kun ensimmäinen ja toinen sato analysoitiin erikseen, mallien selitysasteet paranivat (taulukko 3, kuvat 1 ja 2). Ensimmäisen sadon selitysaste oli INDF:llä parempi verrattuna toiseen satoon, mutta sellulaasiliukoisuudella toisen sadon selitysaste oli hieman parempi. Satojen välinen ero ei liene käytännössä merkittävä, joten ennustekaavana voidaan käyttää molemmille sadoille samaa yhtälöä.

Kemialliset parametrit ennustivat selvästi huonommin sulavuuden muutoksia kuin INDF tai OMS tässä kokeessa samoin kuin Nousiaisen ym. (2003b) heinäkasviaineistossa. Edes kahta kemiallista analyysiä käyttäen mallin luotettavuus ei parantunut (taulukko 4.) Ligniiniipitoisuuden lisääminen INDF:n tai OMS:n lisäksi malliin paransi mallin selitystasetta ja pienensi virhettä, mutta muutos oli OMS:n kanssa pieni. Heinäkasveilla ligniiniipitoisuuden lisääminen vastaavanlaiseen malliin OMS:n lisäksi ei parantanut selitystasetta tai pienentänyt virhettä (Nousiainen ym. (2003b).

Taulukko 3. Puna-apilasäilörehujen orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuden ennustaminen INDF pitoisuudesta tai pepsiini-sellulaasiliukoisuudesta käyttäen mixed regressioanalyysiä (n=19) ensimmäisessä ja toisessa sadossa erikseen.

Muuttuja	Vakio A	S.E.	P-arvo	kerroin B	S.E.	P-arvo	RMSE	Adj.R ²
INDF								
1.sato	856	5,8	<0,0001	-1,204	0,0427	<0,0001	6,96	0,991
2.sato	818	5,5	<0,0001	-1,004	0,0464	<0,0001	6,93	0,980
OMS								
1.sato	26	22,6	0,3005	0,925	0,0303	<0,0001	6,92	0,993
2.sato	79	32,7	0,0385	0,843	0,0436	<0,0001	7,94	0,974

Johtopäätökset

Sulamaton kuitu ennusti parhaiten puna-apilasäilörehujen orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuden ja pepsiini-sellulaasiliukoisuus toiseksi parhaiten. Puhtaasta puna-apilakasvustosta tehdyn säilörehun orgaanisen aineen *in vivo* sulavuus voidaan ennustaa yhtälöillä: OMD (g/kg) = 837 - 1,109 × INDF (g/kg ka) tai OMD (g/kg) = 100 + 0,821 × OMS (g/kg). Kemiallisia analyysejä kuten NDF, ADF, raakavalkuainen tai ligniini ei voida pitää luotettavina sulavuuden kuvaajina.

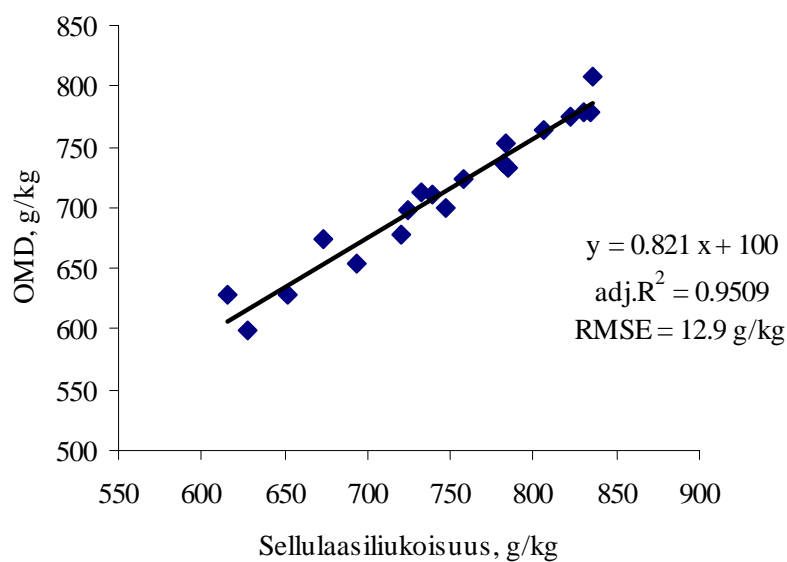
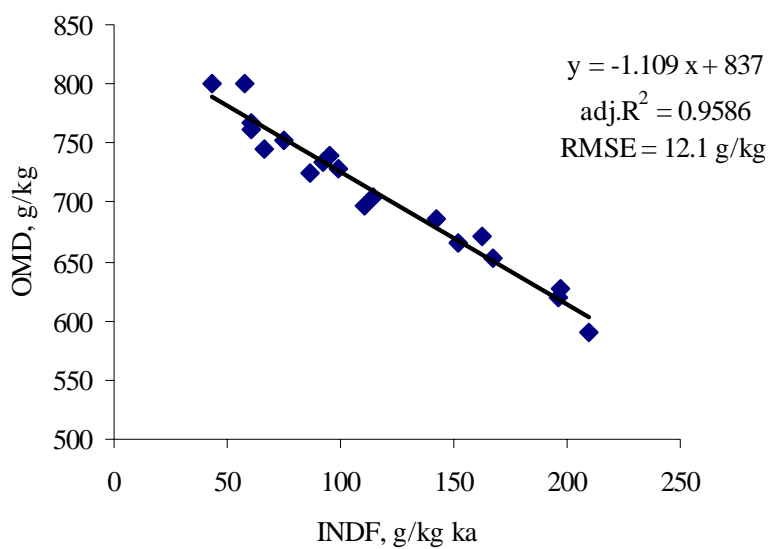
Kirjallisuus

- Ahvenjärvi, S., Skiba, B., Huhtanen, P. 2001. Effect of heterogeneous digesta chemical composition on the accuracy of measurements of fiber flow in dairy cows. *Journal of Animal Science* 79: 1611-1620.
- Kuoppala, K., Ahvenjärvi, S., Rinne, M. ja Vanhatalo, A. 2006. Puna-apilasäilörehun solunseinäkuitu on erilaista kuin timotei-nurminatasäilörehun. *Maataloustieteen Päivät 2006*.
- Nousiainen, J., Rinne, M., Hellämäki, M., Huhtanen, P. 2003a. Prediction of the digestibility of the primary growth of grass silages harvested at different stages of maturity from chemical composition and pepsin-cellulase solubility. *Animal Feed Science and Technology* 103, 1-4: 97-111.
- Nousiainen, J., Rinne, M., Hellämäki, M., Huhtanen, P. 2003b. Prediction of the digestibility of primary growth and regrowth grass silages from chemical composition, pepsin-cellulase solubility and indigestible cell wall content. *Animal Feed Science and Technology* 110, 1-4: 61-74.
- Nousiainen, J., Ahvenjärvi, S., Rinne, M., Hellämäki, M., Huhtanen, P. 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology* 115, 3-4: 295-311.
- Rinne, M., Olt, A., Nousiainen, J., Seppälä, A., Tuori, M., Paul, C., Fraser, M.D., Huhtanen, P. 2005. Prediction of legume silage digestibility from various laboratory methods. *Grass and Forage Science*, submitted.
- Pursiainen, P., Tuori, M., Kuoppala, K., Rinne, M., Huhtanen, P. ja Vanhatalo, A. 2006. Puna-apilasäilörehun korjuuajan vaikutus maidontuotantoon. *Maataloustieteen Päivät 2006*.

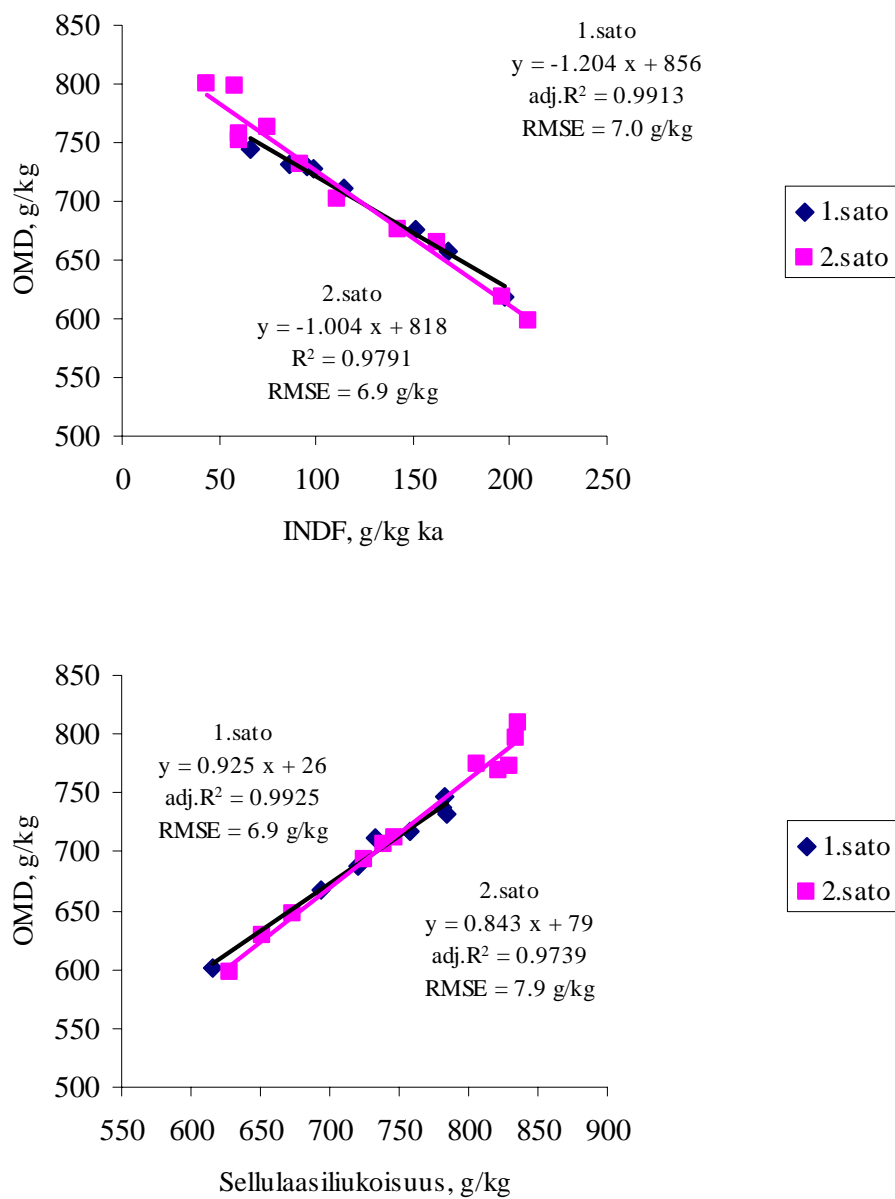
Taulukko 4. Puna-apilasäilörehujen orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuden ennustaminen eri laboratoriomenetelmillä kahden tekijän regressiomallilla (n=19).

Muuttujat	Vakio A	S.E.	P-arvo	kerroin B	S.E.	P-arvo	kerroin C	S.E.	P-arvo	RMSE	Adj.R ²
NDF, ADF	1023	40,0	<0,0001	-1,528	0,365	0,0007	0,940	0,404	0,337	21,7	0,841
NDF, Ligniini	886	46,6	<0,0001	-0,247	0,247	0,3365	-2,135	1,015	0,057	19,5	0,900
ADF, Ligniini	816	24,9	<0,0001	0,247	0,231	0,3052	-3,793	0,854	0,001	22,9	0,854
NDF, RV	1057	101,1	<0,0001	-0,857	0,130	<0,0001	-0,267	0,309	0,401	20,4	0,873
INDF, NDF	855	21,2	<0,0001	-0,993	0,126	<0,0001	-0,090	0,094	0,351	12,5	0,956
INDF, ADF	838	13,0	<0,0001	-1,102	0,116	<0,0001	-0,007	0,096	0,942	12,5	0,956
INDF, Ligniini	829	5,6	<0,0001	-2,15	0,221	<0,0001	2,514	0,594	0,001	8,4	0,983
INDF, RV	919	47,5	<0,0001	-1,272	0,106	<0,0001	-0,330	0,189	0,101	12,1	0,959
OMS, NDF	344	74,2	0,0003	0,603	0,071	<0,0001	-0,236	0,070	0,004	12,3	0,953
OMS, ADF	266	60,2	0,0004	0,665	0,063	<0,0001	-0,219	0,068	0,006	12,2	0,956
OMS, Ligniini	150	95,6	0,1419	0,771	0,107	<0,0001	-0,559	0,361	0,148	10,4	0,970
OMS, RV	109	35,4	0,0074	0,763	0,078	<0,0001	0,182	0,181	0,331	12,9	0,951
INDF, OMS	492	125,5	0,0012	-0,603	0,185	0,0048	0,386	0,141	0,014	11,6	0,961

1) OMS = orgaanisen aineen pepsiini-sellulaasiliukoisuus



Kuva 1. Sulamattoman kuidun (INDF) ja pepsini-sellulaasiliukoisuuden yhteydet orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuteen (OMD) mixed regressiomallia käyttäen.



Kuva 2. Sulamattoman kuidun (INDF) ja pepsini-sellulaasiliukoisuuden yhteydet orgaanisen aineen *in vivo* sulavuuteen (OMD) ensimmäisessä ja toisessa sadossa mixed regressiomallia käyttäen.