

Mikrolevät lypsylehmien ruokinnassa: 2. Valkuaisen hyväksikäyttö

Marjukka Lamminen, Anni Halmemies-Beauchet-Filleau, Tuomo Kokkonen, Seija Jaakkola ja Aila Vanhatalo

Helsingin yliopisto, Maataloustieteiden laitos, PL 28, 00014 Helsingin yliopisto, etunimi.sukunimi@helsinki.fi

TIIVISTELMÄ

Mikrolevät ovat kiinnostava valkuaisrehuvaihtoehto huomattavan suuren kasvupotentiaalinsa ja suuren valkuaispitoisuutensa (jopa 700 g/kg ka) vuoksi. Mikrolevien aminohappokoostumus on lähes rypsin ja soijan veroinen levien pienempää histidiinipitoisuutta lukuun ottamatta. Mikrolevistä lypsylehmien rehuna on vain vähän tutkimustietoa. Tässä tutkimuksessa selvitettiin mikrolevien vaikutusta lypsylehmien valkuaisen hyväksikäyttöön perinteisiin valkuaisrehuihin, rypsiin ja soijaan, verrattuna. Osana EAKR:n rahoittamaa Algae Foods-projektia tehtiin kaksi ruokintakoetta. Kokeessa 1 oli 8 ay-lehmää, joiden poikimisesta oli kokeen alkaessa kulunut 186 pv. Koemallina oli toistettu 4x4 latinalainen neliö. Kontrolliruokinnassa lehmät saivat väkirehuna vilja-leikeseosta ilman valkuaislisää. Isonitrogeenisinä vilja-leikkeen valkuaiäydennyksinä olivat joko rypsirouhe, *Spirulina platensis* leväjauho tai niiden seos vastaten 2,5 kg:n rypsiannosta/pv. Väkirehuannos oli 12 kg/pv. Kokeessa 2 oli 4 ay-lehmää, joiden poikimisesta oli 112 pv. Koemallina oli 4x4 latinalainen neliö. Isonitrogeenisinä vilja-leikeseoksen valkuaiäydennyksinä olivat soijarouhe, *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* sekä *Chlorella vulgarisen* ja *Nannochloropsis gaditanan* seos vastaten 1,8 kg:n soija-annosta/pv. Väkirehuannos oli 12,5 kg/pv. Molemmissa kokeissa lehmät saivat nurmisäilörehua vapaasti. Valkuaiäydennys lisäsi typensaantia kokeessa 1 (+92 g/pv), mutta kokeessa 2 käsittelyiden välillä ei ollut eroa typensaannissa. Valkuaiäydennys ei vaikuttanut maidon valkuaispitoisuuteen eikä -tuotokseen (koe 1). Rypsin korvaaminen *Spirulinalla* heikensi suuntaa-antavasti valkuaiäydyntöä (-45,5 g/pv, koe 1), mutta maidon valkuaispitoisuudessa ei havaittu eroja. Soija- ja mikroleväruokintojen välillä ei ollut eroja maidon valkuaispitoisuudessa eikä -tuotoksessa (koe 2). Kokeessa 1 sekä valkuaiäydennys että rypsin korvaaminen *Spirulinalla* lisäsivät pötsin ammoniakkipitoisuutta (+3,17 ja +0,56 mmol/l), ja typen eritystä virtsaan (+7,5 ja +6,3 %-yksikköä) sekä vastaavasti vähensivät typen eritystä maitoon (-4,3 ja -1,65 %-yksikköä). Kun eri levälajeja verrattiin soijaan ja toisiinsa, rehuvalkuaisen hyväksikäytössä ei havaittu eroja (koe 2). Kummassakaan kokeessa valkuaislähte ei vaikuttanut mikrobivalkuaisen tuotantoon eikä eläinten typitaseeseen. Molemmissa kokeissa typen hyväksikäyttö maitovalkuaisen synteisiin oli hyvällä tasolla, lähes 30 %, kaikilla koeruokinnoilla. Valkuaiäydennys lisäsi lähes kaikkien välttämättömien aminohappojen pitoisuuksia valtimoveressä ja monien näistä osalta myös maitorauhasen aminohappojen otto lisääntyi (koe 1). *Spirulinan* rypsiä pienempi histidiinipitoisuus heijastui valtimoveripitoisuuteen ja maitorauhasen histidiinin ottoon, jotka pienenevät mikrolevän osuuden lisääntyessä (koe 1). Kokeessa 2 maitorauhasen histidiinin otossa ei havaittu eroja. Näiden tulosten perusteella useimmat *Spirulinan* valkuaisen hyväksikäyttöä kuvaavat muuttujat olivat hieman rypsiä heikompia. Sen sijaan soijan ja eri mikrolevälajien välillä ei ollut eroa valkuaisen hyväksikäytössä.

ASIASANAT

Lypsylehmä, mikrolevä, rypsi, soija, maitovalkuainen, valkuaisen hyväksikäyttö

JOHDANTO

Valkuaisrehu on kallista ja tuodaan pääosin ulkomailta Suomeen (Kaukovirta-Norja ym. 2015). Valkuaistäydennys lisää tyypillisesti lypsylehmien säilörehun syöntiä ja maitotuotosta (Allen 2000, Huhtanen ym. 2011). Dieetin valkuaispitoisuuden lisääminen heikentää kuitenkin typen hyväksikäyttöä maitovalkuaiseksi ja lisää typen erityistä sontaan ja virtsaan (Olmos Colmonero ja Broderick 2006, Huhtanen 2008). Mikrolevät ovat kiinnostava valkuaisrehuvaihtoehto huomattavan suuren kasvupotentiaalinsa ja suuren valkuaispitoisuutensa (jopa 700 g/kg ka) vuoksi. Kirjallisuuden mukaan mikrolevälajien aminohappokoostumus on lähes rypsin ja soijan veroinen, pienempää histidiinipitoisuutta lukuun ottamatta (Lamminen 2014, Luke 2015). Histidiini on lypsylehmien maidontuotantoa ensimmäisenä rajoittava aminohappo viljaan ja nurmisäilörehuun pohjautuvassa ruokinnassa (Vanhatalo ym. 1999, Huhtanen ym. 2002). Mikrolevistä lypsylehmien valkuaisrehuna on vain vähän tutkimustietoa. Tässä tutkimuksessa selvitettiin mikrolevien vaikutusta lypsylehmien valkuaisen hyväksikäyttöön perinteisiin valkuaisrehuihin, rypsiin ja soijaan, verrattuna. Hypoteesina oli, että valkuaisäydennys lisää säilörehun syöntiä ja maitotuotosta, mutta heikentää rehuvalkuaisen hyväksikäyttöä maitovalkuaiseksi. Toisena hypoteesina oli, että mikrolevävalkuaisen hyväksikäyttö maidontuotantoon ei ole aivan rypsin ja soijan valkuaisen veroista johtuen levävalkuaisen pienemmästä histidiinipitoisuudesta.

AINEISTOT JA MENETELMÄT

Viikin opetus- ja tutkimustilan navetassa tehtiin samanaikaisesti kaksi ruokintakoetta kesällä 2014. Koekiden toteutus on selostettu yksityiskohtaisemmin rinnakkaisjulkaisussa (Halmemies-Beauchet-Filleau ym. 2016). Kokeessa 1 oli 8 ay-lehmää ja koemallina oli toistettu 4x4 latinalainen neliö. Kontrolliruokinnassa lehmät saivat väkirehuna vilja-melassileikeseosta ilman valkuaislisää. Isonitrogeenisinä valkuaisäydennyksinä olivat rypsirouhe, *Spirulina platensis*-leväjauho tai näiden seos vastaten 2,5 kg:n rypsirouheannosta/pv. Kokeessa 2 oli 4 ay-lehmää ja koemallina oli 4x4 latinalainen neliö. Isonitrogeenisinä vilja-melassileikeseoksen valkuaisäydennyksinä olivat soijarouhe, *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* sekä *Chlorella vulgaris* ja *Nannochloropsis gaditana* seos vastaten 1,8 kg:n soijarouheannosta/pv. Kokeissa käytetyt väkirehuannokset olivat 12 kg/pv (koe 1) ja 12,5 kg/pv (koe 2) sisältäen kivennäis- ja vitamiinilisän. Molemmissa kokeissa lehmät saivat nurmiheinäsäilörehua vapaasti. Nurmisäilörehu oli korjattu 2. sadosta elokuun alussa 2013 pyöröpaaleihin lyhyen esikuivauksen jälkeen käyttäen muurahaishappopohjaista säilöntäainetta. Lehmät olivat kytkettyinä parsiin, jotka oli varustettu vaa'allisin RIC-rehukupein (Insentec B.V., Marknesse, Alankomaat) ja ne lypsettiin kahdesti päivässä klo 6.00 ja 17.00.

Koejaksojen kaksi ensimmäistä viikkoa olivat totutusviikkoja ja kolmas viikko keruuviikko. Keruuviikon aikana syötettävistä rehuista (koejakson päivät 15-21), sonnasta (17-20), virtsasta (18-19), maidosta (18-20), pötsinesteestä (20, koe 1) sekä häntä- ja maitosuonen verestä (21) otettiin näytteet. Sonta- ja virtsanäytteet otettiin spot-näytteinä. Säilörehun ja väkirehun syönti sekä maitotuotos kirjattiin ylös päivittäin. Ravintoaineiden sulavuus laskettiin happoon liukenemattoman tuhkan (AIA) avulla. Näytteet analysoitiin ja tulokset laskettiin Ylisen (2015) kuvaamien menetelmien ja kaavojen mukaan. Plasman virtaus maitorauhaseen laskettiin Fickin säännön mukaan perustuen fenyylialaniiniin ja tyrosiiniin siirtymiseen plasmasta maitovalkuaiseen. Maitorauhasen aminohappojen otto laskettiin käyttäen kaavaa (pitoisuus valtimoplasmassa – pitoisuus laskimoplasmassa) x plasman virtaus maitorauhaseen. Pötsissä tuotetun mikrobivalkuaisen määrä määritettiin virtsan puriinijohdannaisten avulla (Chen ja Gomes 1992)

Tulosten analysointiin käytettiin SAS-ohjelmiston (versio 9.3, SAS Institute Inc., Cary, Yhdysvallat) Mixed-proseduurin varianssianalyysiä. Kokeen 1 tilastollisessa mallissa kiinteinä muuttujina olivat koeruokinta, neliö ja jakson vaikutus neliössä sekä satunnaismuuttujana eläin neliössä. Kokeen 2 tilastollisessa mallissa kiinteinä muuttujina olivat koeruokinta ja jakso ja satunnaismuuttujana eläin. Kummassakaan kokeessa typen saanti ei ollut normaalijakautunut, minkä vuoksi se analysoitiin neliömuunnoksen jälkeen.

TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

Koerehujen koostumus on esitetty taulukossa 1. Kokeissa käytetty säilörehu oli säilönnälliseltä laadultaan hyvää. Se sisälsi kuitenkin suhteellisen vähän raakavalkuaista (135 g/kg kuiva-ainetta (ka)) ja sen D-arvo oli kohtalainen (656 g/kg ka). *Spirulina* ja *Chlorella* sisälsivät runsaasti raakavalkuaista. *Nan-*

nochloropsiksen raakavalkuaispitoisuus oli muita mikroleviä pienempi ja sijoittui valkuaispitoisuudeltaan rypsi- ja soijatiivisteiden väliin. Mikrolevien valkuainen sisälsi rypsi- ja soijatiivistettä vähemmän histidiiniä, isoleusiiniä ja tryptofaania, mutta enemmän metioniinia ja fenyylialaniinia. *Spirulina* ja *Chlorella* eivät sisältäneet lainkaan neutraalidetergenttikuitua (NDF) ja myös *Nannochloropsis* sitä oli vähän. *Nannochloropsis* sisälsi muita mikroleviä enemmän tuhkaa.

Taulukko 1. Koerehujen koostumus

	Säilö- rehu ¹	Vilja- melassi- leikeseos	Melassi- leike	Seos- melassi	Rypsi- tiiviste	Soija- tiiviste	Mikrolevät		
							Spirulina	Chlorella	Nanno- chloropsis
Kuiva-aine, g/kg	377	900	879	706	866	878	946	948	962
Kuiva-aineessa, g/kg									
Tuhka	81,7	34,3	66,8	103	66,1	75,5	71,8	51,4	158
NDF ²	496	362	339	-	272	145	0	0	76,8
Raakavalkuainen	135	122	112	13,0	311	439	697	586	385
Välttämättömät aminohapot, g/kg raakavalkuaista									
Arginiini	39,0	57,2	39,1		65,9	78,6	77,0	58,0	62,0
Fenyylialaniini	47,9	47,4	33,9		44,7	55,3	105	99,4	99,6
Histidiini	17,7	22,7	27,5		28,0	27,4	16,6	18,3	17,6
Isoleusiini	39,5	34,0	36,7		40,9	46,1	8,11	14,0	18,6
Leusiini	73,2	66,3	57,0		74,2	79,9	51,9	32,6	38,9
Lysiini	49,3	34,7	52,5		53,3	62,5	38,8	59,5	55,2
Metioniini	11,6	10,3	9,96		12,9	9,76	22,2	20,8	19,4
Treoniini	42,5	36,5	40,3		48,8	43,1	49,3	38,8	44,8
Tryptofaani	14,6	18,6	14,5		21,8	20,5	4,43	5,56	5,07
Valiini	52,1	48,3	49,6		52,7	47,0	57,7	48,1	50,4
Haaraketjuiset ³	165	149	143		168	173	118	95,0	108
Välttämättömät	387	376	361		443	470	431	395	412
Ei-välttämättömät	411	513	375		506	532	468	439	464
Yhteensä	799	889	736		949	1003	899	834	875

¹Säilörehun käymislaatu (g/kg kuiva-ainetta): maitohappo 27,2, etikkahappo 6,8, propionihappo 0,8, voihiappo 0,2 ja vesiliukoiset hiilihydraatit 136, pH 4,24, ammoniumtyppi 19,6 g/kg N. D-arvo 656 g/kg kuiva-ainetta.

²Neutraalidetergenttikuitu

³Isoleusiini, Leusiini, Valiini

Koe 1. Valkuaistäydennys sekä rypsirouheen korvaaminen Spirulinalla

Valkuaistäydennys lisäsi typen saantia, dieetin raakavalkuaispitoisuutta (125 vs. 149 g raakavalkuaista/kg dieetin ka, $P < 0,001$) ja lähes kaikkien välttämättömien aminohappojen pitoisuutta plasmassa (taulukko 2). Säilörehun pienestä raakavalkuaispitoisuudesta johtuen kaikkien koeruokintojen raakavalkuaispitoisuudet jäivät suhteellisen pieniksi. Vaikka valkuaisäydennys lisäsi ($P < 0,05$) plasman histidiinipitoisuutta, sillä ei ollut vaikutusta ($P > 0,10$) maitorauhasen histidiinin ottoon. Plasman histidiinipitoisuus oli suuri kaikissa koeruokinnissa (yli 54 $\mu\text{mol/l}$) eikä se täten todennäköisesti ollut maidontuotantoa ensimmäisenä rajoittava aminohappo tässä tutkimuksessa. Huolimatta maitorauhasen suuremmasta ($P < 0,05$) välttämättömien aminohappojen otosta, valkuaislisä ei vaikuttanut ($P > 0,10$) maidon valkuaispitoisuuteen tai -tuotukseen (keskimäärin 37,2 g/kg ja 1011 g/pv, Halmemies-Beauchet-Filleau ym. 2016).

Valkuaistäydennys heikensi typen hyväksikäyttöä, sillä se lisäsi pötsinesteen ammoniakkipitoisuutta ($P < 0,001$) ja maidon ureapitoisuutta ($P < 0,001$) vaikuttamatta valkuaisuotukseen. Tämän seurauksena tyyppiä jakautui vähemmän maitoon (-4,3 %-yks., $P < 0,001$) ja sontaan (-4,1 %-yks., $P < 0,001$) ja enemmän virtsaan (+7,4 %-yks., $P < 0,10$). Maidon ureapitoisuus oli kuitenkin melko pieni valkuaislisättömällä kontrolliruokinnalla, vain 13,6 mg/100 ml, joka viittaa pötsimikrobien typenpuutteeseen. Huhtasen (2010) mukaan pötsissä on riittävästi hajoavaa valkuaispötsimikrobien tarpeisiin, kun maidon ureapitoisuus ylittää 18 mg/100 ml. Pötsimikrobeilla saattoi olla kontrolliruokinnassa valkuaisen puutteen lisäksi myös energian puute. Huolimatta hyvästä säilönnällisestä laadusta, säilörehu oli kokeen

alussa lähes ylivuotista ja sen D-arvo oli tyydyttävä. Täten säilörehun energia-arvo oli todennäköisesti pieni. Dieetin orgaanisen aineen sekä NDF:n sulavuudet olivat myös alhaisella tasolla koko kokeessa.

Dieetin valkuaispitoisuuden lisääminen heikentää tyypillisesti typen hyväksikäyttöä maitovalkuaiseksi (Olmos Colmonero ja Broderick 2006, Huhtanen ym. 2008). MTT:n aineistossa 10 g/kg ka raakavaluaispitoisuuden lisäys dieetissä on vähentänyt typen hyväksikäyttöä 1,4 % (Huhtanen ja Shingfield 2005). Muutokset typen jakautumisessa sontaan ja virtsaan kuvastavat typen saannin ja sulavuuden lisääntymistä ($P < 0,001$) valkuais täydennyksen myötä. Myös aikaisemmissa kokeissa valkuais täydennys on tyypillisesti lisännyt typen sulavuutta (Olmos Colmonero ja Broderick 2006, Huhtanen ym. 2011). Muutokset typen jakaantumisessa eivät kuitenkaan pääsääntöisesti olleet kovin suuria ruokintojen välillä, sillä kaikkien koeruokintojen raakavaluaispitoisuudet olivat korkeintaan 150 g/kg ka. Kun ruokinnan raakavaluaispitoisuus ylittää 150 g/kg ka, typen erittyminen virtsaan lisääntyy merkittävästi (Castillo ym. 2000). Todennäköisesti energian saanti rajoitti tässä kokeessa pötsimikrobien valkuais synteesiä myös valkuais täydennyillä ruokinnoilla eivätkä mikrobit täten pystyneet käyttämään lisävalkuais täysimääräisesti hyväkseen. Huhtanen ym. (2011) mukaan lisääntynyt energian saanti parantaa myös OIV:n hyväksikäyttöä maidontuotantoon. Koska lehmät olivat yli laktatiokauden keskivälin, on myös mahdollista, että lisävalkuaisen tarve ei enää ollut kovin suuri. Lisävalkuaisella on kuitenkin tyypillisesti saatu positiivinen tuotosvaste myös loppulaktatiiossa (Saarisalo ym. 1997). Kokonaisuudessaan typen hyväksikäyttö maitovalkuaisen synteesiin oli kuitenkin hyvällä tasolla, noin 30 %, kaikilla koeruokinnoilla. MTT:n koeaineistossa typen hyväksikäyttö on ollut keskimäärin 28,1 % lypsylehmillä tehdyissä ruokintakokeissa (Nousiainen ym. 2003).

Spirulinan rypsiä pienempi histidiinipitoisuus heijastui plasman histidiinipitoisuuteen ja maitorauhasen histidiinin ottoon, jotka pienenevät suuntaa-antavasti *Spirulinan* korvatussa rypsiä ($P < 0,10$). Histidiinin saantia *Spirulina*-dieeteillä vähensi entisestään väkirehun heikko maittavuus, jolloin säilörehun osuus dieeteissä lisääntyi rypsiruokintaan verrattuna. Plasman histidiinipitoisuus oli kuitenkin suhteellisen suuri kaikissa koeruokinnoissa. Dieetin mahdollisesti epätasapainoinen aminohappokoostumus vaikutti myös typen hyväksikäyttöön. Pötsin ammoniakkipitoisuus lisääntyi *Spirulinan* korvatussa rypsiä (+0,56 mmol/l, $P < 0,10$), jolloin typen hyväksikäyttö maidontuotantoon heikkeni (-1,65 %-yks., $P < 0,01$) ja virtsaan erittyvän typen osuus lisääntyi suuntaa-antavasti (+6,3 %-yks., $P < 0,10$). Rypsin korvaaminen *Spirulinalla* heikensi suuntaa-antavasti valkuaisuutosta (-45,5 g/pv, $P < 0,10$), mutta maidon valkuaispitoisuudessa ei havaittu eroja (Halmemies-Beauchet-Filleau ym. 2016).

Koe 2. Soijaruohon korvaaminen eri mikrolevillä

Typen hyväksikäytössä ei ollut juuri lainkaan eroja soija- ja mikroleväruokintojen välillä (taulukko 3). Kun osa *Chlorellasta* korvattiin vähemmän raakavaluais sisältävällä *Nannochloropsiksella*, dieetin raakavaluaispitoisuus pieneni suuntaa-antavasti ($P < 0,10$). Tämä johtui *Nannochloropsiksen* huonommasta maittavuudesta. Koekäsittelyiden välillä ei kuitenkaan ollut eroa ($P > 0,10$) typen saannissa.

Numeerisesti käsittelyiden väliset erot plasman histidiinipitoisuudessa olivat suuremmat kokeessa 2 kuin kokeessa 1, mutta erot eivät tulleet kokeessa 2 tilastollisesti merkitseviksi suuremman hajonnan vuoksi. Mikrolevien, ja rypsin ja soijan välillä oli yhtä suuri tasoero histidiinipitoisuudessa (taulukko 1), joten erot plasman histidiinipitoisuudessa kokeiden ja mikroleväkäsittelyiden välillä johtuvat todennäköisesti erilaisesta väkirehun syönnistä. Numeerisesti pienin plasman histidiinipitoisuus mitattiin *Chlorellaa* ja *Nannochloropsista* sisältäneessä ruokinnassa (45,5 $\mu\text{mol/l}$). Molemmissa kokeissa plasman histidiinipitoisuudet olivat kuitenkin suhteellisen suuria verrattuna Korhosen (2003) keräämään suomalaiseen aineistoon, jossa plasman histidiinipitoisuus on vaihdellut 17-42 $\mu\text{mol/l}$ (keskimäärin 23 $\mu\text{mol/l}$). Nyt tehdyissä kokeissa plasman metioniinin ja lysiinin pitoisuudet vastaavat Korhosen (2003) aineistoa. On siis epätodennäköistä, että mikrolevien histidiinipitoisuus rajoitti tässä kokeessa maidontuotantoa.

Maitotuotos sekä maidon valkuaispitoisuus ja -tuotos pysyivät muuttumattomina kokeessa 2 koekäsittelyistä riippumatta (keskimäärin 30,6 kg/pv, 31,9 g/kg ja 980 g/pv, Halmemies-Beauchet-Filleau ym. 2016). Tällöin ei myöskään havaittu eroja typen jakautumisessa. Typen hyväksikäyttö maitovalkuaisen synteesiin oli tässäkin kokeessa hyvällä tasolla, ollen keskimäärin 30,3 %, ja virtsaan ja sontaan erittyvän typen osuudet olivat keskimäärin 30,1 % ja 39,7 %, vastaavasti.

Taulukko 2. Koe 1: Valkuaisen hyväksikäyttö

	Koeruokinta				SEM	P-arvo ¹		
	Kontrolli	Rypsi	Rypsi + Spirulina	Spirulina		Valkuaislisä	Spirulina lineaarinen	Spirulina 2. aste
<i>Syönti, kg/pv</i>								
Säilörehun kuiva-aine	12,2	12,9	12,8	13,3	0,57	o		
Dieetin kuiva-aine	22,8	23,4	23,0	22,8	0,49			
N, g/pv ²	457	546	549	552		***		
<i>Syödyn dieetin koostumus, g/kg kuiva-ainetta</i>								
Väkirehun osuus dieetissä	466	451	449	422	15,2	*	*	
Raakavalkuainen	125	146	149	151	0,6	***	***	
Neutraalidetergenttikuitu	421	413	409	409	2,4	***		
<i>Sulavuus, g/kg</i>								
Orgaaninen aine	646	660	657	661	5,5	**		
N	572	609	608	623	8,3	***		
Neutraalidetergenttikuitu	441	481	475	494	11,3	***		
<i>Pötsinesteen NH₃-N, mmol/l</i>	2,52	5,32	5,38	6,37	0,661	***	o	
<i>Pötsin mikrobi-N, g/pv³</i>	224	235	228	229	9,2			
<i>Maidon urea, mg/dl</i>	13,6	20,2	22,1	20,2	0,99	***		*
<i>N jakaantuminen</i>								
N tase, g/pv ⁴	-7,88	17,1	-0,62	-6,49	17,128			
N maidossa, g/pv	157	164	156	157	4,9		o	
N sonnassa, g/pv	196	214	215	208	6,20	**		
N virtsassa, g/pv	113	152	178	194	14,6	**	o	
N maidossa, %	34,3	30,0	28,3	28,4	0,79	***	**	
N sonnassa, %	42,8	39,1	39,2	37,7	0,84	***		
N virtsassa, %	24,6	27,8	32,7	35,4	3,01	o	o	
<i>Plasman välttämättömät aminohapot, µmol/l</i>								
Arginiini	81,3	89,2	89,7	92,9	3,32	*		
Fenyylialaniini	51,3	55,1	54,3	54,2	2,05	o		
Histidiini	54,8	65,1	64,1	58,8	3,04	*	o	
Isoleusiini	136	149	144	150	4,55	*		
Leusiini	133	162	156	152	6,1	**		
Lysiini	106	115	115	117	3,7	*		
Metioniini	23,0	24,9	24,1	24,7	0,82			
Treoniini	103	117	111	118	3,5	**		o
Tryptofaani	40,1	41,5	40,3	39,4	1,22			
Valiini	264	309	292	292	11,6	**		
Haaraketjuiset ⁵	532	620	591	593	20,6	**		
Välttämättömät	991	1127	1090	1099	28,0	**		
Ei-välttämättömät	1768	1752	1725	1757	47,8			
Yhteensä	2759	2879	2816	2856	55,1	o		
<i>Maitorauhasen välttämättömien aminohappojen otto, mmol/pv</i>								
Arginiini	556	624	639	604	37,7	o		
Fenyylialaniini	319	352	339	337	15,9	*		
Histidiini	237	250	214	212	12,9		o	
Isoleusiini	558	772	609	698	68,3	o		
Leusiini	836	1016	961	940	59,0	*		
Lysiini	798	868	840	836	40,8			
Metioniini	186	214	182	195	12,9			o
Treoniini	443	497	312	396	75,5			
Tryptofaani	30,8	40,2	3,84	19,8	21,57			
Valiini	672	944	867	882	81,3	*		
Haaraketjuiset ⁵	2066	2732	2437	2520	184,8	*		
Välttämättömät	4635	5578	4967	5120	262,8	*	o	
Ei-välttämättömät	4009	3736	2791	3196	526,5			
Yhteensä	8644	9314	7736	8316	637,3			

¹ Valkuaislisän sekä rypsirouheen valkuaisen korvaaminen *Spirulinan* valkuaisella lineaarinen ja 2. asteen tilastollinen merkitsevyys ***($P < 0,001$), **($P < 0,01$), *($P < 0,05$) ja o($P < 0,10$), ² Tilastollisessa analyysissä typen saanti muunnettuna toiseen potenssiin: 209 084, 299 267, 303 117, 306 353 g/pv, SEM 10 823, ³ Chen ja Gomes, 1992, ⁴ Laskettu kaavalla N saanti (g/pv) – [N maidossa (g/pv) + N sonnassa (g/pv) + N virtsassa (g/pv)], ⁵ Isoleusiini, Leusiini, Valiini.

Taulukko 3. Koe 2: Valkuaisen hyväksikäyttö

	Koeruokinta				SEM	P-arvo ¹		
	Soija	Spirulina	Chlorella	Chlorella + Nanno		Soija vs. mikrolevät	Spirulina vs. muut mikrolevät	Chlorella vs. Chlorella + Nanno
<i>Syöinti, kg/pv</i>								
Säilörehun kuiva-aine	10,6	12,9	10,9	12,8	0,51	*		*
Dieetin kuiva-aine	21,5	22,0	20,9	21,6	1,29			
N, g/pv ²	530	539	516	517				
<i>Syödyn dieetin koostumus, g/kg kuiva-ainetta</i>								
Väkirehun osuus dieetissä	511	408	477	397	39,0	o		
Raakavalkuainen	154	153	154	150	1,5			o
Neutraalidetergenttikuitu	408	425	408	426	8,6			
<i>Sulavuus, g/kg</i>								
Orgaaninen aine	659	650	661	661	12,7			
N	617	602	609	606	16,1			
Neutraalidetergenttikuitu	474	503	491	516	24,5			
<i>Pötsin mikrobi N, g/pv³</i>	225	241	216	230	21,9			
<i>Maidon urea, mg/dL</i>	23,9	20,0	24,1	22,0	2,90			
<i>N jakaantuminen</i>								
N tase, g/pv ⁴	23,4	15,4	5,20	3,02	21,58			
N maidossa, g/pv	149	163	150	152	9,6			
N sonnassa, g/pv	202	217	204	207	18,0			
N virtsassa, g/pv	156	141	156	155	16,3			
N maidossa, %	28,2	30,8	29,5	29,5	1,83			
N sonnassa, %	38,3	39,8	39,1	39,4	1,61			
N virtsassa, %	29,6	27,4	30,1	29,9	2,92			
<i>Plasman välttämättömät aminohapot, µmol/l</i>								
Arginiini	87,5	83,7	75,9	83,8	9,30			
Fenyylalaniini	56,8	58,8	54,0	53,5	3,28			
Histidiini	63,4	52,3	56,9	45,5	7,12			
Isoleusiini	147	207	167	173	25,5			
Leusiini	156	188	180	158	21,9			
Lysiini	107	116	109	102	9,1			
Metioniini	24,5	25,9	20,9	21,7	2,76			
Treoniini	129	123	109	117	9,5			
Tryptofaani	41,5	40,5	36,4	39,1	1,14	o		
Valiini	318	352	347	319	29,7			
Haaraketjuiset ⁵	621	748	695	651	75,1			
Välttämättömät	1131	1251	1160	1113	90,9			
Ei-välttämättömät	1741	1739	1685	1731	101,4			
Yhteensä	2873	3003	2857	2844	119,2			
<i>Maitorauhasen välttämättömien aminohappojen otto, mmol/pv</i>								
Arginiini	560	544	481	492	33,7	*	*	
Fenyylalaniini	293	313	306	300	17,3			
Histidiini	195	197	195	193	15,5			
Isoleusiini	605	559	676	562	59,1			
Leusiini	818	837	900	796	45,7			o
Lysiini	752	796	796	721	52,7			
Metioniini	163	186	167	172	11,3			
Treoniini	396	415	376	394	31,5			
Tryptofaani	37,9	66,7	52,2	60,5	7,73	*		
Valiini	800	757	924	756	65,2			*
Haaraketjuiset ⁵	2223	2149	2497	2114	158,6			o
Välttämättömät	4620	4686	4889	4448	229,6			o
Ei-välttämättömät	3232	3621	3409	3000	377,2			
Yhteensä	7852	8324	8314	7448	436,0		o	*

¹ Tilastollinen merkitsevyys ***($P < 0,001$), **($P < 0,01$), *($P < 0,05$) ja o($P < 0,10$), ² Tilastollisessa analyysissä typen saanti muunnettuna toiseen potenssiin: 283 261, 291 747, 272 180, 271 417 g/pv, SEM 7,046E8, ³ Chen ja Gomes, 1992, ⁴ Laskettu kaavalla N saanti (g/pv) – [N maidossa (g/pv) + N sonnassa (g/pv) + N virtsassa (g/pv)], ⁵ Isoleusiini, Leusiini, Valiini.

JOHTOPÄÄTÖKSET

Täydennysvalkuainen heikensi typen hyväksikäyttöä verrattuna kontrolliruokintaan ilman valkuaislisää. Säilörehun matalasta D-arvosta johtuen energian saanti saattoi rajoittaa molemmissa kokeissa valkuaisen hyväksikäyttöä. Useimmat *Spirulinan* valkuaisen hyväksikäyttöä kuvaavat muuttujat olivat hieman rypsirohetta heikompia. Sen sijaan soijarouheen ja eri mikrolevälajien välillä ei ollut eroa valkuaisen hyväksikäytössä. Mikrolevien soijaa ja rypsiä pienempi histidiinipitoisuus ei todennäköisesti rajoittanut maidontuotantoa. Säilörehun ja edelleen kaikkien koeruokintojen raakavalkuaispitoisuus oli melko pieni, mistä johtuen rehutypen hyväksikäyttö maitovalkuaisen synteesiin oli kaikissa koeruokintoissa korkealla tasolla, ollen keskimäärin 30 %.

KIRJALLISUUS

- Allen, M.S.** 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 83:1598-1624.
- Castillo, A.R., Kebreab, E., Beever, D.E. & France, J.** 2000. A review of efficiency of nitrogen utilisation in lactating dairy cows and its relationship with environmental pollution. *Journal of Animal and Feed Sciences* 9:1-32.
- Chen, X.B. & Gomes, M.J.** 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: An overview of technical details. International Feed Resources Unit, Occasional Publication. Rowett Research Institute, Aberdeen, Yhdistynyt Kuningaskunta.
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Lamminen, M., Kokkonen, T., Jaakkola, S. & Vanhatalo A.** 2016. Mikrolevät lypsylehmien ruokinnassa: 1. Maidontuotanto. Maataloustieteen Päivät 2016. www.smts.fi
- Huhtanen, P.** 2010. Märehtijöiden valkuaisarvojärjestelmä (OIV-PVT) uudistuu. Maataloustieteen päivät 2010. www.smts.fi
- Huhtanen, P., Hetta, M. & Swensson, C.** 2011. Evaluation of canola meal as a protein supplement for dairy cows: A review and a meta-analysis. *Canadian Journal of Animal Science* 91:529–543.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J.I., Rinne, M., Kytölä, K. & Khalili, H.** 2008. Utilization and partition of dietary nitrogen in dairy cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science* 91: 3589-3599.
- Huhtanen, P. & Shingfield, K.J.** 2005. Grass silage: factors affecting efficiency of N utilisation in milk production. Teoksessa: Park, R.S. & Stronge, M.D. (toim.). Silage production and utilisation. Proceedings of the XIVth International Silage Conference, a satellite workshop of the XXth International Grassland Congress, July 2005, Belfast, Northern Ireland. Wageningen Academic Publishers s. 35-50.
- Huhtanen, P., Vanhatalo A. & Varvikko, T.** 2002. Effects of abomasal infusions of histidine, glucose, and leucine on milk production and plasma metabolites of dairy cows fed grass silage diets. *Journal of Dairy Science* 85:204–216.
- Lamminen, M.** 2014. Mikrolevien käyttö kotieläinten ravitsemuksessa. Maataloustieteen Päivät 2014. www.smts.fi
- Luke 2015.** Rehutaulukot ja ruokintasuositukset. Verkkojulkaisu. <https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/Rehutaulukot> Viitattu 3.12.2015.
- Kaukovirta-Norja, A., Leinonen, A., Mokkila, M., Wessberg, N. & Niemi, J.** 2015. Tiekartta Suomen proteiiniomavaraisuuden parantamiseksi. VTT VISIONS 6. Verkkojulkaisu. <http://www.vtt.fi/inf/pdf/visions/2015/V6.pdf> Viitattu 10.12.2015.
- Korhonen, M.** 2003. Amino acid supply and metabolism in relation to lactational performance of dairy cows fed grass silage based diets. Väitöskirja. Helsingin yliopisto, Kotieläintieteen laitos. 45 s.
- Nousiainen, J., Kytölä, K., Khalili, H. & Huhtanen, P.** 2003. Ruokinnan mahdollisuudet parantaa typen hyväksikäyttöä maidontuotannossa. Teoksessa: Uusikämpä, J., Yli-Halla, M. & Grék, K. (toim.) Lypsykarjataloudesta tulevan ympäristökuormituksen vähentäminen. Maa- ja elintarviketalous 25. MTT Jokioinen. s. 26-39.
- Olmos Colmenero, J.J. & Broderick, G.A.** 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89:1704-1712.
- Saarisalo, E., Jaakkola, S. & Huhtanen, P.** 1997. Valkuaistäydennyksen vaikutus maidontuotantokauden loppuvaiheessa. Kotieläintieteen päivät 1997.
- Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Toivonen, V. & Varvikko, T.** 1999. Response of dairy cows fed grass silage diets to abomasal infusions of histidine alone or in combinations with methionine and lysine. *Journal of Dairy Science* 82:2674–2685.
- Ylinen, V.** 2015. Mikrolevä lypsylehmien valkuaisrehuna – vaikutus syöntiin, aineenvaihduntaan ja maidontuotantoon. Maisterintutkielma. Helsingin yliopisto, Maataloustieteiden laitos. 63s.