

Ocena składu chemicznego odmian *Lolium multiflorum* z zastosowaniem różnych metod analitycznych

P. GOLIŃSKI¹, J. KAŻMIERCZAK²

¹Katedra Łąkarstwa, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

²Hodowla Roślin Szelejewo Sp. z o.o.

Evaluation of chemical composition of *Lolium multiflorum* cultivars using different analytical methods

Abstract. The study evaluated chemical composition of 13 breeding strains and 3 cultivars of *Lolium multiflorum* using standard analytical methods and applying the NIRS method. It was found that out of all *Lolium multiflorum* cultivars and breeding strains, in relation to the model – ‘Lotos’ cultivar, ‘SZD-SZ-200’ and ‘POB-GN-144’ were characterised by advantageous content of crude protein, ‘RGI-P364’ – by a high sugar level, ‘POB-GN-144’ and ‘RGI-P382’ – by low levels of lignins and ‘RGI-P287’ – by a good total calcium concentration. The performed analyses showed a considerable consistency between assays obtained using the NIRS method and those arrived at by standard chemical methods with regard to crude protein, NDF and ADF.

Key words: breeding strain, chemical composition, cultivar, *Lolium multiflorum*, NIRS

1. Wstęp

Skład chemiczny traw jest niezbędnym elementem określenia ich wartości pokarmowej. Stwierdzenie to dotyczy zarówno gatunków, jak i odmian hodowlanych. Doskonalenie składu chemicznego na drodze hodowli jest ciągle aktualnym zadaniem, także w odniesieniu do *Lolium multiflorum*, gatunku o bardzo wysokiej wartości pokarmowej. Skład chemiczny powinien więc stanowić zasadnicze kryterium wyboru materiałów do prac hodowlanych. Do oceny składu chemicznego traw wykorzystuje się różne metody analityczne. Poszukiwanie metod odznaczających się dokładnością, szybkością, niskimi kosztami, łatwością interpretacji wyników i prostotą przygotowania prób jest aktualnym problemem w ośrodkach naukowych.

Celem pracy była ocena składu chemicznego odmian hodowlanych *Lolium multiflorum* różnymi metodami analitycznymi.

2. Materiał i metody

Eksperyment polowy przeprowadzono w Hodowli Roślin Szelejewo. W 1998 roku na glebie brunatnej o podłożu gliniastym, zaliczanej do klasy bonitacyjnej IIIa, założono doświadczenie jednoczynnikowe metodą bloków losowanych w 4 powtórzeniach, na poletkach o powierzchni 5 m². Ocenie poddano skład chemiczny 13 rodów hodowlanych oraz 3 odmian *Lolium multiflorum* – ‘Fastyl’ (F), ‘Mitos’ (PL) i ‘Lotos’ (PL). W analizie porównawczej odmianę ‘Lotos’ traktowano jako wzorzec. W okresie wegetacji 1999 roku,

czyli pełnego użytkowania upraw, w którym zebrano trzy odrosty, zastosowano nawożenie $200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$, $90 \text{ kg ha}^{-1} \text{ P}_2\text{O}_5$ i $60 \text{ kg ha}^{-1} \text{ K}_2\text{O}$. Dawkę azotu dzielono, podając 80 kg ha^{-1} w momencie ruszenia wegetacji oraz 60 kg ha^{-1} po pierwszym i drugim odroście. Warunki pogodowe były bardzo sprzyjające dla wzrostu i rozwoju życicy wielokwiatowej w całym cyklu produkcyjnym, za wyjątkiem drugiej połowy lipca i sierpnia 1999 roku, kiedy wystąpiła posucha letnia. Do zbioru wykorzystano specjalistyczny kombajn poletkowy do zielonek Halstrup. Umożliwił on pozyskanie z całej powierzchni poletka jednorodnej, średniej próbki materiału do analiz chemicznych.

Badania składu chemicznego odmian *Lolium multiflorum* prowadzono z wykorzystaniem standardowych metod analitycznych. Oznaczano azot (metodą Kjeldahla z wykorzystaniem aparatu Kjeltec), cukry (DUBOIS I WSP., 1956), ligniny i celulozę (VAN SOEST I WINE, 1968), hemicelulozy (HEYLAND, 1959), NDF i ADF (aparatem Ankom 200 Fiber Analyzer), ogólne formy fosforu (metodą wanadowo-molibdenową), magnezu (metodą kolorymetryczną) oraz wapnia (metodą miareczkową). Te same składniki w materiale roślinnym odmian *Lolium multiflorum* oznaczono metodą NIRS (spektroskopia odbiciowa w bliskiej podczerwieni = ang. Near Infrared Reflectance Spectroscopy) z wykorzystaniem aparatu firmy Foss-Tecator – NIRSystems model TR 3700, w skład którego wchodził Monochromator 5000 wyposażony w siatkę dyfrakcyjną.

Próby do analiz tą metodą rozdrobiono za pomocą młynka Cyclotec 1093 firmy Foss-Tecator. Równania kalibracyjne dla białka, NDF i ADF uzyskano na podstawie prób materiału roślinnego zebranego na terenie Polski. Zostały one opracowane przez firmę CRI (Cooperative Resources International). Dla pozostałych składników wykorzystano gotowe modele z USA. Uzyskany materiał wynikowy poddano ocenie statystycznej, wykorzystując analizę wariancji dla doświadczeń czynnikowych ortogonalnych. Istotność różnicowania wyników weryfikowano testem Fischera na poziomie ufności $P = 0,95$ (ELANDT, 1964).

3. Wyniki i dyskusja

Badane odmiany *Lolium multiflorum* odznaczały się znacznym zróżnicowaniem składu chemicznego (tab.1). Największą zawartością białka ogólnego w odniesieniu do średniej z trzech odrostów wykazywały 'POB-GN-144', 'SZD-SZ-200' i 'Lotos', odpowiednio, $117,5 \text{ g}$, $116,9 \text{ g}$ i $116,5 \text{ g}$ w kg s.m. Przeciwnieństwem ich był ród 'RGI-P382', u którego stwierdzono stężenie białka na poziomie $103,4 \text{ g kg}^{-1} \text{ s.m.}$, czyli około 12% mniej w porównaniu z kreacjami najlepszymi. Najmniejsze odchylenia w zawartości białka u analizowanych odmian i rodów odnotowano w odroście pierwszym, a największe w trzecim. Pod względem stężenia cukrów korzystnie wyróżniał się ród 'RGI-P364' ($86,1 \text{ g kg}^{-1} \text{ s.m.}$). Przewyższał on najgorszy pod tym względem 'SZD-SZ-199' o około 17%. Różnicowanie pomiędzy skrajnymi genotypami w poszczególnych odrostach w zakresie zawartości cukrów było znaczne. Maksymalną wartość osiągnęło ono w odroście drugim – 27%. Kreacją hodowlaną o największej zawartości obojętnego włókna detergentowego (NDF) okazał się ród 'SZD-SZ-200' ($546,8 \text{ g kg}^{-1} \text{ s.m.}$). Jego przeciwnieństwem był 'RGI-P287', u którego stwierdzono $479,2 \text{ g NDF}$ w kg s.m. . Nieco mniejsze zróżnicowanie, na poziomie 8,8%, odnotowano w odniesieniu do kwaśnego włókna detergentowego (ADF). Genotypem o największym

stężeniu tego składnika okazał się ród 'POB-GN-144' (318,7 g kg⁻¹ s.m), natomiast najmniejszym – 'SZD-SZ-193' (290,6 g kg⁻¹ s.m.). O jakości paszy, zwłaszcza jej strawności, w dużej mierze decydują ligniny. Ich największą ilość stwierdzono u 'SZD-SZ-196' (32,9 g kg⁻¹ s.m.), a najmniejszą, tylko 20,0 g kg⁻¹ s.m., odnotowano u 'POB-GN-144'. Genotyp ten odznaczał się także najbardziej korzystnym stosunkiem lignin do celulozy. W przypadku hemiceluloz wysoką koncentracją wyróżniał się 'SZD-SZ-193' (257,8 g kg⁻¹ s.m.), co stanowiło ponad 20% więcej niż u 'RGI-P364'.

Tabela 1. Skład chemiczny odmian *Lolium multiflorum* oznaczony standardowymi metodami analitycznymi – średnie z trzech odrostów (g kg⁻¹ s.m.)

Table 1. Chemical composition of *Lolium multiflorum* cultivars according standard analytical methods – means of three regrowths (g kg⁻¹ DM)

Odmiana Cultivar	Białko ogólne Crude protein	Cukry Sugars	NDF	ADF	Ligniny Lignins	Hemi- celulozy Chemi- cellulose	Ca ogólny Ca total	Mg ogólny Mg total	P ogólny P Total
SZD-SZ-193	111,8	80,7	506,4	290,6	22,1	257,8	5,70	1,15	3,05
SZD-SZ-194	111,7	72,6	512,2	302,1	29,3	223,8	5,40	1,36	3,17
SZD-SZ-195	107,0	77,0	518,4	305,2	26,0	227,9	5,39	1,38	3,20
SZD-SZ-196	110,6	77,8	517,2	305,9	32,9	215,4	5,58	1,39	3,32
SZD-SZ-197	110,7	78,4	514,4	304,9	30,7	240,4	5,02	1,25	3,16
SZD-SZ-198	113,3	74,4	513,3	304,0	25,9	238,3	6,06	1,33	3,67
SZD-SZ-199	112,9	71,7	510,5	305,6	29,4	220,9	5,55	1,47	2,87
SZD-SZ-200	116,9	72,4	546,8	304,3	23,8	235,2	5,95	1,37	3,24
POB-GN-144	117,5	80,4	535,5	318,7	20,0	247,8	5,38	1,48	3,08
POB-GN-145	114,5	73,9	520,6	313,7	29,5	256,3	4,57	1,40	3,44
RGI-P287	113,1	74,7	479,2	297,7	22,6	236,6	7,03	1,30	3,26
RGI-P364	103,4	86,1	516,4	304,6	29,9	204,9	5,15	1,27	2,95
RGI-P382	105,7	75,3	519,5	305,6	21,8	211,3	5,30	1,34	3,03
FASTYL	108,4	72,5	519,0	310,2	26,0	228,8	5,38	1,24	3,24
MITOS	111,7	73,0	523,2	312,3	29,2	215,5	5,71	1,30	3,07
LOTOS	116,5	78,2	529,3	315,0	25,6	206,6	5,84	1,37	3,15
Średnia - Mean	111,6	76,2	517,6	306,3	26,5	229,2	5,56	1,34	3,18
NIR ₀₅ - LSD ₀₅	7,01	5,61	22,85	11,21	6,85	26,93	0,809	0,176	0,245

Ważnym elementem oceny wartości pokarmowej *Lolium multiflorum* jest także skład mineralny. W analizowanych odmianach i rodach hodowlanych stwierdzono optymalną zawartość wapnia i fosforu oraz duże niedobory magnezu. Genotypem wykazującym największą predyspozycję do gromadzenia wapnia był 'RGI-P287' (7,03 g kg⁻¹ s.m.), natomiast najmniejszą – 'POB-GN-145' (4,57 g kg⁻¹ s.m.). Jeszcze większe odchylenia odnotowano w odniesieniu do magnezu. Największą zawartością magnezu w odniesieniu do średniej z trzech odrostów odznaczał się ród 'POB-GN-144' (1,48 g kg⁻¹ s.m.). Przeciwnieństwem był 'SZD-SZ-193', u którego stwierdzono stężenie magnezu na poziomie 1,15 g kg⁻¹ s.m. Zawartość fosforu kształtowała się w granicach od 2,87 do 3,32 g kg⁻¹ s.m. Wzmoczoną tendencję do kumulacji fosforu wykazywał ród 'SZD-SZ-198' (3,67 g kg⁻¹ s.m.).

W doświadczeniach odmianowych istnieje konieczność analizowania licznych prób materiału roślinnego. Analityka jest więc bardzo ważnym elementem poprawy efektywności hodowli nowych odmian poprzez odpowiednią selekcję najlepszych pod

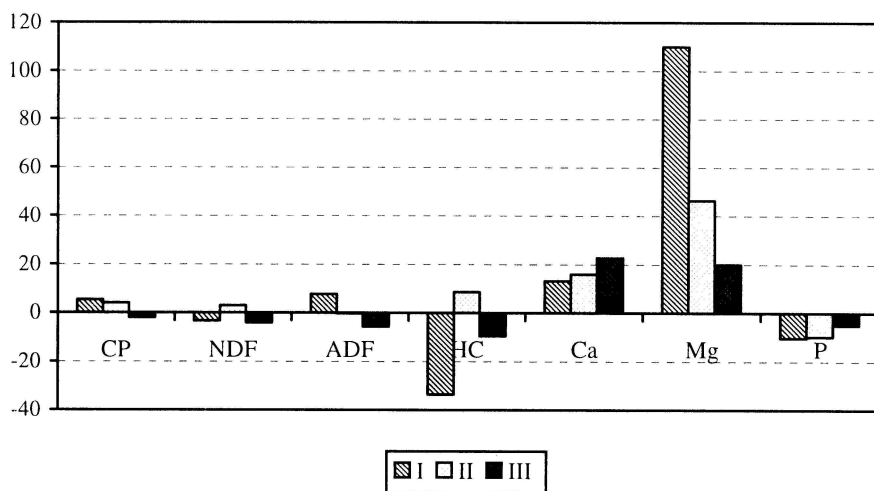
względem jakościowym materiałów do dalszych prac. Metodą, która jest szczególnie przydatna do analiz długich serii prób jest NIRS. Ta fizyczna metoda wymaga jednak kalibracji wykonywanej przy wykorzystaniu standardowych procedur analitycznych. Tak więc dokładność metody NIRS jest bezpośrednio zależna od kalibracji (CZARNIK-MATUSEWICZ I KORNIWICZ, 1999). Z tego względu interesujące jest porównanie uzyskanej charakterystyki składu chemicznego odmian i rodów hodowlanych *Lolium multiflorum* z wynikami otrzymanymi w efekcie oceny tych samych prób metodą NIRS. Dane dotyczące odchyień wyników uzyskanych w efekcie zastosowania obydwu metod zamieszczono w tabeli 2. Zawartość białka oznaczona metodą NIRS była większa średnio o 1,34%, w porównaniu do klasycznych metod analitycznych. Jedynie w przypadku jednego rodzaju odchylenia przekroczyły 5%. Tak dużą przydatność NIRS w ocenie paszy na zawartość białka potwierdza także CZARNIK-MATUSEWICZ (1998). Bardzo zbliżone wyniki uzyskano również w przypadku oznaczeń NDF i ADF. Średnie odchylenia dla wszystkich genotypów pomiędzy NIRS a metodami standardowymi wyniosły, odpowiednio, -1,68% i 0,23%. Zdecydowanie większe zróżnicowanie wyników stwierdzono w pozostałych składnikach. W przypadku hemiceluloz i fosforu oznaczenia metodą NIRS były zaniżone w porównaniu do metod standardowych, odpowiednio, o 12,05% i 8,81%. Natomiast w odniesieniu do wapnia i magnezu uzyskano wartości zdecydowanie większe. Wyniki analiz materiału roślinnego metodą NIRS na zawartość magnezu były zawyżone średnio o 43,62% z wahaniami od 25,67 do 70,43% dla poszczególnych genotypów, a wapnia przeciętnie o 18,04% (-0,42-33,98%), w stosunku do danych uzyskanych metodami klasycznymi.

Tabela 2. Odchylenia składu chemicznego odmian *Lolium multiflorum* oznaczonego metodą NIRS w porównaniu do standardowych metod analitycznych – średnie z trzech odrostów (%)

Table 2. Deviation of chemical composition of *Lolium multiflorum* cultivars according NIRS method in comparison to standard analytical methods – means of three regrowths (%)

Odmiana Cultivar	Białko ogólne Crude protein	NDF	ADF	Hemicelulozy Chemicellulose	Ca ogólny Ca total	Mg ogólny Mg total	P ogólny P total
SZD-SZ-193	1,34	1,50	5,10	-19,47	19,82	70,43	-7,21
SZD-SZ-194	5,01	-6,62	0,07	-10,95	21,48	47,05	-6,62
SZD-SZ-195	3,08	-2,72	0,03	-14,17	16,14	37,68	-8,44
SZD-SZ-196	1,81	-1,33	1,34	-5,48	19,35	46,04	-10,57
SZD-SZ-197	3,52	-2,10	-0,29	-16,97	28,09	46,40	-5,06
SZD-SZ-198	-0,26	-1,17	1,58	-17,50	7,75	42,86	-19,34
SZD-SZ-199	1,86	-0,04	1,11	-8,87	13,51	31,29	-1,94
SZD-SZ-200	-0,51	-7,22	0,89	-14,84	9,24	40,87	-7,41
POB-GN-144	0,42	-2,84	-1,91	-16,22	18,21	25,67	-3,90
POB-GN-145	-1,05	-0,96	-0,03	-21,18	32,32	37,86	-11,92
RGI-P287	0,80	3,01	0,54	-16,48	-0,42	48,46	-14,11
RGI-P364	4,06	-1,70	0,56	-6,76	33,98	49,60	-8,47
RGI-P382	2,46	-1,58	0,98	-4,12	20,87	41,79	-10,89
FASTYL	-0,37	-0,07	0,77	-9,96	23,84	46,58	-15,74
MITOS	1,16	-1,18	-0,96	-3,66	16,64	49,61	-4,56
LOTOS	-1,89	-1,89	-6,03	-6,18	7,88	35,77	-4,76
Średnia - Mean	1,34	-1,68	0,23	-12,05	18,04	43,62	-8,81

Zróżnicowanie wyników analiz prób materiału roślinnego *Lolium multiflorum* z wykorzystaniem różnych metod zaznaczało się także w poszczególnych odrostach (ryc.1). Oznaczenia zawartości białka, NDF i ADF metodą NIRS w porównaniu do metod standardowych oscylowały w granicach błędu statystycznego. Jednakże w odniesieniu do pozostałych składników odchylenia pomiarów metodą NIRS odbiegały zbyt mocno od oznaczeń metodami chemicznymi. Największe zróżnicowanie odnotowano w ocenie prób z pierwszego odrostu na zawartość magnezu. Oznaczenia tego składnika metodą NIRS były aż o 110% większe w porównaniu do rzeczywistych wartości. Przeszacowanie wyników stwierdzono także w odniesieniu do wapnia, od 13% do 23%, przy czym największe zróżnicowanie miało miejsce w odroście trzecim. W przypadku fosforu oznaczenia metodą NIRS były zaniżone o 5-10%, w zależności od odrostu. Trudne do interpretacji jest zróżnicowanie wyników dotyczących zawartości hemiceluloz. W ocenie metodą NIRS uzyskano w pierwszym i trzecim odroście dane zaniżone, odpowiednio o 34% i 9%, natomiast w drugim zawyżone o 9%. Wydaje się, że spowodowały to inne czynniki zakłócające procedurę analityczną.



Ryc.1. Odchylenia składu chemicznego *Lolium multiflorum* oznaczonego metodą NIRS w porównaniu do standardowych metod analitycznych w kolejnych odrostach (%)

Fig.1. Deviation of chemical composition of *Lolium multiflorum* according NIRS method in comparison to standard analytical methods in successive regrowth stages (%)

Zróżnicowanie wyników uzyskiwanych metodą NIRS i metodami klasycznymi wynika niewątpliwie z niedoskonałości kalibracji spektrofotometrów. Jak podaje PODKÓWKA I WSP. (1996), próbki do kalibracji powinny pochodzić z terenu całego kraju lub regionu, w którym metoda NIRS będzie stosowana i charakteryzować się maksymalnie zróżnicowaną zawartością składników. Zdaniem tych Autorów posługiwanie się w Polsce kalibracjami wykonanymi w Stanach Zjednoczonych i w innych krajach, z których pochodzą zakupione spektrofotometry, należy uznać za błędne, bowiem warunki glebowo-klimatyczne oraz agrotechnika i wiele innych czynników decyduje o zawartości

składników pokarmowych w paszach. Kalibracja powinna być wykonana na materiale rodzimym, ciągle poprawiana i uzupełniana w celu uzyskania odpowiedniej dokładności wyników.

4. Wnioski

- W hodowli *Lolium multiflorum* osiągnięto postęp, czego wyrazem jest obecność odmian wyróżniających się zwiększoną zawartością białka ogólnego ('SZD-SZ-200' i 'POB-GN-144'), cukrów ('RGI-P364'), wapnia ('RGI-P287'), oraz mniejszym udziałem lignin ('POB-GN-144' i 'RGI-P382').
- W badaniach wykazano dużą zbieżność między metodą NIRS i standardowymi metodami chemicznymi w oznaczaniu takich składników jak: białko ogólne, NDF i ADF. Zróżnicowanie wyników pomiędzy tymi metodami na płaszczyźnie średnich z okresu wegetacji wyniosło odpowiednio 1,34%, -1,68% i 0,23%.
- Stwierdzono duże zróżnicowanie zawartości w składzie chemicznym *Lolium multiflorum* hemiceluloz, ogólnych form wapnia, magnezu i fosforu oznaczonych metodą NIRS i metodami laboratoryjnymi. Różnice te w okresie wegetacji wahały się od 8,81% do 43,62%, a największe przeszacowanie odnotowano w przypadku magnezu.
- Stosowanie metody NIRS w ocenie jakościowej odmian i rodów hodowlanych traw jest racjonalne i w pełni uzasadnione pod warunkiem wykonania prawidłowej kalibracji spektrofotometrów w oparciu o rodzimy materiał analityczny.

Literatura

- CZARNIK-MATUSEWICZ H., 1998. Porównanie efektywności oznaczania składników pokarmowych paszy i produktów pochodzenia zwierzęcego klasycznymi metodami laboratoryjnymi i techniką spektroskopii odbiciowej w bliskiej podczerwieni (NIRS). Maszynopis rozprawy doktorskiej, Instytut Zootechniki, Kraków, 128 ss.
- CZARNIK-MATUSEWICZ H. & A. KORNIWICZ, 1999. Spektroskopia odbiciowa w bliskiej podczerwieni (NIRS) w analizie pasz i produktów pochodzenia zwierzęcego. II. Zasady kalibracji NIRS. Biuletyn Informacyjny Instytutu Zootechniki, 2, 61-72.
- DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBERS P.A. & F. SMITH, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28, 3, 350-356.
- ELANDT R., 1964. Statystyka matematyczna w zastosowaniu do doświadczeń rolniczego. PWN, Warszawa.
- HEYLAND K.V., 1959. Der Verlauf der Einlagerung von Gerüstsubstanzen und anderen Kohlenhydraten in den Sprosse von Weizen und Roggen zwischen Ährenschieben und Todreife. Zeitschrift für Acker- und Pflanzenbau, 108, 4, 473-496.
- PODKÓWKA W., DOROSZEWSKI P., PODKÓWKA Z. & P. SZTERK, 1996. Możliwość wykorzystania bliskiej podczerwieni w laboratorium paszowym. Przegląd Hodowlany, 4, 19-22.
- VAN SOEST P.J. & R.H. WINE, 1968. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fibre with permanganate. Journal AOAC, 51, 4, 780-785.

Evaluation of chemical composition of *Lolium multiflorum* cultivars using different analytical methods

P. GOLIŃSKI¹, J. KAŻMIERCZAK²

¹*Department of Grassland Sciences, August Cieszkowski-Agricultural University of Poznań*

²*Plant Breeding Szelejewo Sp. z o.o.*

Summary

The study evaluated chemical composition of 13 breeding strains and 3 cultivars of *Lolium multiflorum* using standard analytical methods and applying the NIRS method. The experimental material derived from a field experiment established in 1998 in Plant Breeding Szelejewo. It was found that out of all *Lolium multiflorum* cultivars and breeding strains, in relation to the model – ‘Lotos’ cultivar, ‘SZD-SZ-200’ and ‘POB-GN-144’ were characterised by advantageous content of crude protein, ‘RGI-P364’ – by a high sugar level, ‘POB-GN-144’ and ‘RGI-P382’ – by low levels of lignins and ‘RGI-P287’ – by a good total calcium concentration. The performed analyses showed a considerable consistency between assays obtained using the NIRS method and those arrived at by standard chemical methods with regard to crude protein, NDF and ADF. On the other hand, significant differences were recorded in results associated with concentrations of hemicelluloses, calcium, magnesium and phosphorus. The performed experiments allowed concluding that, provided appropriate calibration of spectrophotometers was performed on the basis of native analytical material, it is completely rational and justifiable to use the NIRS method for qualitative assessment of grass cultivars and breeding strains.

Recenzent – Reviewer: *Stanisław Krzywiecki*

Adres do korespondencji – Address for correspondence:

Dr hab. Piotr Goliński

Katedra Łąkarstwa, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

ul. Wojska Polskiego 38/42, 60-627 Poznań

tel. (061) 848-7414, fax (061) 848-7424

e-mail: pgolinsk@woodcock.au.poznan.pl