

**ZLOŽENIE BUNKOVÝCH STIEN LUCERNY SIATEJ (*MEDICAGO SATIVA* L.)
A *IN SACCO* DEGRADÁCIA N-LÁTKOK A ORGANICKEJ HMOTY**

**COMPOSITION OF CELL WALLS AND *IN SACCO* CRUDE PROTEIN
AND ORGANIC MATTER DEGRADATION OF ALFALFA (*MEDICAGO SATIVA* L.)**

ZUZANA ČEREŠŇÁKOVÁ, PAVOL FLAK, MÁRIA CHRENKOVÁ

Slovenské centrum poľnohospodárskeho výskumu, Nitra
Slovak Agricultural Research Center, Nitra

ČEREŠŇÁKOVÁ, Z. – FLAK, P. – SLAMKA, P. – CHRENKOVÁ, M.: Composition of cell walls and *in sacco* crude protein and organic matter degradation of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Agriculture (Poľnohospodárstvo), vol. 52, 2006, N. 3, pp. 144–149.

The aim of this work was to determine the changes of crude protein content and changes of cell walls content and their compositions in alfalfa during vegetation periods, and their effect on crude protein and organic matter degradability in the rumen. The rumen degradability was determined by using *in sacco* method.

Alfalfa maturity was increasing cell walls content and its constituents (cellulose, hemicellulose and lignin) as well as decreasing crude protein content in every subperiod.

The increase in neutral detergent fibre (NDF) was greater with increasing plant maturity in spring than in summer months. Currently, lignin share of NDF content increased from 13.8 to 20.8 % within the 1st subperiod.

This tendency was the same in all subperiods.

There was observed significant decline of crude protein and organic matter effective degradability (EdgCP and EdgOM) with the content of NDF and its constituents (mainly lignin) between sampling in each subperiod. Significance between individual subperiods was observed only for EdgCP. It documents very high F-tests of the analysed parameters. All correlations and regression coefficients between NDF content (as well as its constituents) and EdgCP and EdgOM were statistically highly significant. The maximal correlation and regression were observed between EdgOM and lignin content ($r_s = -0.9256$ and $r = -0.8671$). Dependence of EdgCP and lignin content is described by $r_s = -0.7927$ and $r = -0.6498$.

Key words: alfalfa, cell-walls, lignin, effective degradability, crude protein, organic matter

Je známe, že utilizácia objemových krmív prežúvavcami závisí od príjmu, obsahu a kvality živín v krmive. Lucerna siata (*Medicago sativa* L.) predstavuje v našich podmienkach dôležité objemové krmivo, ktorého kvalita vo výžive súvisí so štádiom fenofázy. Leguminózy sú lepšie stráviteľné než trávy, pretože obsahujú menej vlákniny [3], čo vyplýva z rozdielov v ich morfológii a anatómii [9], ale tiež zastúpením jednotlivých monosacharidov v štruktúrach hemicelulóz [5]. So starnutím lucerny sa však zužuje

pomer listov k stonkám [1] – v stonkách stúpa obsah lignínu, čo znižuje ich stráviteľnosť a kvalitu lucerny ako krmiva.

Podľa A t a n a s s o v e j a kol. [2] na degradáciu N-látok v lucerne má negatívny vplyv obsah vlákniny a pozitívny obsah N-látok.

Cieľom predloženej práce bolo sledovať zmeny v obsahu a zložení bunkových stien lucerny siatej v priebehu vegetácie (v rámci štyroch kosieb) a ich vplyv na degradáciu organickej hmoty a N-látok (metódou *in sacco*), ktoré sú

jedným z dôležitých ukazovateľov kvality a využitia živín prežúvavcami.

MATERIÁL A METÓDA

Vzorky lucerny siatej (*Medicago sativa* L.) sme odobrali medzi 2. májom až 6. septembrom. Počas tohto obdobia sa urobili štyri kosby (subperiódy) a v rámci každej kosby niekoľko odberov lucerny (tab. 1). Pred prvou kosbou sme urobili sedem odberov, po nej štyri, po druhej kosbe sme urobili tri odbery a po tretej kosbe dva odbery – vždy v 7–10-dňových intervaloch (tab. 1). Vzorky sme odobrali z viacerých miest porastu tak, že sa z 50 cm

zreteľného riadku lucerny odkosili byle a zostalo 3-centimetrové strnisko. Po vysušení prirodzeným spôsobom v tieni sa vzorky lucerny použili na analýzy a stanovenie degradovateľnosti metódou *in sacco*.

Časť vzorky lucerny sme po vysušení zomleli na mlyne s 1-milimetrovým sitom a použili na chemické analýzy. Okrem N-látok, popola a vlákniny [18] sme stanovili neutrálne detergentnú vlákninu (NDV), acido-detergentnú vlákninu (ADV) a lignín (Lig) podľa van Soest a [15]. Obsah hemicelulóz (HC) a celulózy (C) sme stanovili výpočtom podľa vzťahov

$$\begin{aligned} \text{HC} &= \text{NDV} - \text{ADV} \\ \text{C} &= \text{ADV} - \text{Lig} \end{aligned}$$

T a b u ľ k a 1

Obsah živín vo vzorkách lucerny (g kg⁻¹ suš.)
Nutrients content in alfalfa samples (g kg⁻¹ d.m.)

Subperióda a dátum odberu vzorky (1)		Živiny (2)						
		NL (N x 6,25)	NDV	ADV	HC	C	Lig	NfOM
sub. 1	2.5.	308,8	294,5	274,8	19,7	233,9	40,8	603,1
	9.5.	268,7	342,2	305,0	37,3	255,0	52,3	653,9
	16.5.	250,4	361,4	323,3	38,1	273,8	49,5	638,0
	23.5.	233,9	386,2	343,9	42,2	277,2	66,8	657,7
	30.5.	222,0	462,6	382,7	79,9	307,1	75,6	699,4
	13.6.	187,8	488,9	441,5	47,4	351,5	90,0	734,4
	21.6.	171,2	480,5	419,8	60,8	317,6	99,3	760,6
sub. 2	15.6.	257,3	343,2	309,2	34,0	250,4	58,8	638,7
	21.6.	228,6	375,7	328,9	46,8	257,6	71,3	668,7
	27.6.	186,4	462,0	410,5	51,5	332,8	77,7	726,7
	2.7.	185,1	458,8	386,7	72,1	296,2	81,8	733,0
sub. 3	19.7.	210,9	444,7	384,2	60,4	316,5	67,7	691,9
	31.7.	189,8	452,1	395,3	56,7	310,5	84,8	725,6
	21.8.	184,2	466,8	408,5	58,3	326,8	81,6	734,3
sub. 4	31.8.	222,1	383,5	334,0	49,5	261,4	72,6	664,7
	6.9.	216,0	385,8	343,9	41,9	278,8	65,1	679,4

- suš. – sušina – dry matter (d.m.)
- NL – dusíkaté látky – crude protein
- NDV – neutrálne detergentná vláknina – neutral detergent fibre
- ADV – acido-detergentná vláknina – acido-detergent fibre
- HC – hemicelulózy – hemicelluloses
- C – celulóza – cellulose
- Lig – lignín – lignin
- NfOM – bezdusíková organická hmota – nitrogen-free organic matter
- sub. – subperióda – subperiod

(1) Subperiod and date of sampling, (2) nutrients

Pri stanovení degradovateľnosti organickej hmoty a N-látok metódou *in sacco* sme postupovali podľa H a r a z i m a a P a v e l k u [12]. Lucernu sme zomleli na mlyne s prepacom cez 3-milimetrové sito, navážili do vrecúšok vyhotovených z Uhelonu-130T (Hedva, Moravská Třebová, ČR) a inkubovali 6-9-16-24-48-72 hodín v bachore troch býkov s voperovanými veľkými bachorovými kanylami (pre každé zviera, každú vzorku a inkubáciu sme použili tri opakovania). Z úbytku organickej hmoty a N-látok za jednotlivé inkubácie sme rovnica-
mi Ø r s k o v a a M c D o n a l d a [17] vypočítali parametre degradovateľnosti a efektívnu degradovateľnosť pri rýchlosti pasáže 0,06 h⁻¹.

Matematicko-štatistické spracovanie výsledkov [11]:

- stanovenie základných variačno-štatistických charakteristík sledovaných ukazovateľov
- vyhodnotenie získaných hodnôt dvojfaktorovou analýzou rozptylu s jedným pozovo-

rovaním v podtriade a so stanovením koeficientov opakovateľnosti

- stanovenie závislosti efektívnej degradovateľnosti organickej hmoty (EdgOH) a N-látok (EdgNL) pomocou jednoduchej lineárnej regresie a korelácie, a to spolu i odhadom väznených regresii a korelácií r_s .

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kritériom optimálneho pestovania lucerny sietej je dosiahnutie rovnovážneho stavu medzi jej úrodnosťou a kvalitou. Všetky aspekty pestovania tejto plodiny súvisia s procesmi rastu a vývoja. Rastové štádiá (ale i sezónnosť pestovania) vplyvajú na variabilitu chemického zloženia [8].

Jedným z najdôležitejších faktorov optimálneho využitia lucerny je jej kvalita a systém predikovania kvality. Lucerna v porovnaní s trávami je jedinečná tým, že obsahuje menej bunkových stien (NDV) resp. hrubej vlákniny, pre-

T a b u l k a 2

Dvojfaktorová analýza rozptylu ukazovateľov lucerny
Two-nested analysis of variance of lucerne traits

Štat. hodnota (1)	Vláknina (2)	NDV	ADV	Lig	C	Degradovateľnosť (%) (3)	
						OH	NL
\bar{x}	318,10	414,35	362,10	71,37	290,34	52,00	78,20
s	7,58	9,25	7,39	2,12	5,63	1,10	0,58
v (%)	16,51	15,47	14,16	20,63	13,43	14,66	5,15
F-test							
subperióda (4)	0,803	0,482	0,448	0,253	0,575	0,442	4,624*
odber (5)	16,86**	41,30**	28,07**	121,30	15,14**	749,99**	96,50**
s_e	21,72	18,14	5,81	2,540	17,264	0,522	0,549
opakovateľnosť (6)	0,841**	0,931**	0,900**	0,976**	0,825**	0,960**	0,970**

*P<0,05 **P<0,01

OH – organická hmota – organic matter

\bar{x} – priemer – average

s – smerodajná odchýlka – standard deviation

v – variačný koeficient – coefficient of variance

s_e – chyba – error

P – rozdiely preukazné na hladine $\alpha = 0,05$ alebo $\alpha = 0,01$

differences significant at the level $\alpha = 0,05$ or $\alpha = 0,01$

Ostatné symboly ako v tabuľke 1.

Other symbols are identical with those of table 1.

(1) Statistical characteristics, (2) crude fibre, (3) degradability lignin, (4) subperiod, (5) sampling, (6) repeatability

T a b u l k a 3

Vzťah medzi analyzovanými ukazovateľmi a efektívnou degradovateľnosťou organickej hmoty a N-látok lucerňy
Relations between analysed parameters and effective degradability of organic matter and crude protein of alfalfa

Ukazovateľ a štat. hodnota (1)		Degradovateľ- nosť (4)	Obsah živín (g.kg ⁻¹ suš.) (5)				
			vláknina (6)	NDV	ADV	Lig	C
organická hmota (2)	\bar{x}	52,00					
	s	7,62					
	b_s		-0,1225	-0,0963	-0,1219	-0,4745	-0,1478
	r_s		-0,7419**	-0,7764**	-0,7743**	-0,9256**	-0,6717**
	b		-0,0830	-0,0782	-0,0949	-0,4488	-0,0965
	r		-0,5716**	-0,6580**	-0,6380**	-0,8671**	-0,4939**
N-látky (3)	\bar{x}	78,20					
	s	4,03					
	b_s	0,2714	-0,0468	-0,0379	-0,0504	-0,1528	-0,0701
	r_s	0,7219	-0,7539**	-0,8123**	-0,8546**	-0,7927**	-0,8476**
	b	0,3441	-0,0375	-0,0374	-0,0465	-0,1778	-0,0536
	r	0,6508	-0,4890**	-0,5957**	-0,5915**	-0,6498**	-0,5186**

**P<0,01

b_s - vážený regresný koeficient - weighted regression coefficient
 r_s - vážený korelačný koeficient - weighted correlation coefficient
 b - regresný koeficient - regression coefficient
 r - korelačný koeficient - correlation coefficient

Ostatné symboly ako v tabuľkách 1 a 2.

Other symbols are identical with those of tables 1 and 2.

(1) Parameter and statistical characteristics, (2) organic matter, (3) crude protein, (4) degradability, (5) nutrients content, (6) crude fibre

tože má veľmi nízky obsah hrubej vlákniny v lístkoch. Leguminózy majú v lístkoch len 25 % hrubej vlákniny, v stonkách až 40-55 % [4]. Počas dozrievania sa však pomer medzi lístkami a stonkami mení v neprospech lístkov. V zreléj rastline majú preto stonky väčší vplyv na stráviteľnosť celej rastliny ako lístky [6].

Ako vyplýva z tabuľky 1, obsah bunkových stien (NDV) v lucerne sa s dozrievaním rastliny v rámci každej kosby zvyšoval. V bunkových stenách sa menil vzájomný pomer celulózy, hemicelulózy a lignínu. Zvyšoval sa najmä podiel lignínu na obsahu NDV (napr. v prvej subperióde z pôvodných 13,8 na 20,8 %), ale zvýšil sa aj obsah celulózy z pôvodných 234 na 317 g na kilogram sušiny, pričom jej podiel v bunkových stenách klesol zo 79 na 66 %. Podobné tendencie boli aj v odberoch druhej až štvrtej kosby.

So zvyšovaním obsahu bunkových stien (NDV) klesal obsah N-látok, čo ovplyvnilo ob-

sah bezdusíkovej organickej hmoty (tab. 1). S a n d e r s o n a W e d i n [18] zistili, že viac ako 80 % celkového dusíka v objemových krmivách sa nachádza v rozpustnom bunkovom obsahu, v chloroplastoch a cytoplazme. Zvyšok je viazaný na bunkové steny ako natívne bielkoviny bunkových stien a v acidodetergentnej vláknine na lignín, ktorý je zle trávený.

S a n d e r s o n a W e d i n [18] tiež zistili, že v procese dozrievania lucerňy sa v stonkách zvyšuje podiel dusíka viazaného na neutrálne detergentnú vlákninu (NDV), čo spôsobuje aj pokles degradácie N-látok. Aj v našich skorších prácach sme zistili, že podiel rozpustného dusíka z jeho celkového obsahu s dozrievaním lucerňy klesal z 54,6 % (začiatok tvorby kvetných pukov) na 41,2 % (plné kvitnutie). Dusík viazaný na frakciu acidodetergentnej vlákniny (ADV) stúpol zo 4,2 na 5,7 % a znížila sa *in sacco* degradovateľnosť N-látok [13]. Množstvo dusíka viazaného na ADV sa ne-

gatívne prejavilo na stráviteľnosti N-látok i organickej hmoty [7].

Negatívny vplyv zvyšovania obsahu lignínu v bunkových stenách (NDV) v procese starnutia lucerny na degradovateľnosť organickej hmoty a N-látok potvrdili aj naše výsledky. Matematicko-štatistickou analýzou sme zistili vysoko významnú opakovateľnosť sledovaných parametrov (bunkové steny a ich jednotlivé zložky, efektívna degradovateľnosť organickej hmoty a N-látok) medzi jednotlivými odbermi v rámci kosby, čo poukazuje na veľmi vysokú podobnosť medzi opakovanými pozorovaniami (tab. 2). Naopak, medzi kosbami poukázal F-test významnú opakovateľnosť len pre efektívnu degradovateľnosť N-látok.

Priemery analyzovaných parametrov, regresie a korelácie (ko)variability odberov b_s a r_s a celkové regresie a korelácie b a r medzi efektívnou degradovateľnosťou organickej hmoty a N-látok a obsahom analyzovaných ukazovateľov sú v tabuľke 3. Všetky korelácie a regresné koeficienty boli vysoko významné. Závislosť efektívnej degradovateľnosti organickej hmoty (EdgOH) od obsahu NDV (r_s) mala hodnotu $-0,776$. Maximálna bola pri obsahu lignínu, kde dosiahla až $-0,9256$. Pozorovali sme tiež vysokú závislosť efektívnej degradovateľnosti N-látok od obsahu NDV, ADV a lignínu. Rovnako vysoké boli celkové korelácie a regresie (tab. 3).

Z našich analýz je evidentné, že degradovateľnosť organickej hmoty a N-látok lucerny je podmienená najmä obsahom lignínu, pre ktorý sú regresné koeficienty tri- až štvornásobne vyššie ako pre ostatné parametre. Rovnako aj Jung [14] zistil medzi obsahom lignínu a stráviteľnosťou organickej hmoty a N-látok v lucerne i trávach negatívne korelácie.

ZÁVER

Zo získaných výsledkov vyplýva, že obsah lignínu v bunkových stenách je veľmi dôležitým (i keď negatívnym) parametrom nutričnej hodnoty lucerny, z obsahu ktorého je možné odvodiť efektívnu degradovateľnosť organickej hmoty a N-látok. Hodnoty efektívnej degradovateľnosti N-látok významne ovplyvňujú PDI (protein digestible in intestine – bielkoviny strávené v čreve) hodnotu lucerny. Z praktického

hľadiska treba upozorniť, že so stúpajúcim obsahom lignínu v procese dozrievania lucerny klesá jej nutričná hodnota.

Na stanovenie efektívnej degradovateľnosti organickej hmoty (EdgOH) a N-látok (EdgNL) môžeme použiť nasledovné rovnice:

a) pre jednotlivé odbery:

$$\text{EdgOH} = 85,84 - 0,47\text{Lig} \quad r_s = -0,9256^{++}$$

$$\text{EdgNL} = 89,11 - 0,15\text{Lig} \quad r_s = -0,792^{++}$$

b) pre všetky odbery:

$$\text{EdgOH} = 84,03 - 0,45\text{Lig} \quad r = -0,8671^{++}$$

$$\text{EdgNL} = 90,89 - 0,18\text{Lig} \quad r = -0,6498^{++}$$

Do redakcie došlo 9. novembra 2005

LITERATÚRA

1. ALBRECHT, K.A. – WEDIN, W.F. – BUXTON, D.R. (1987): Cell-wall composition and digestibility of alfalfa stems and leaves. In: *Crop Sci.*, vol. 27, 1987, pp. 735–741.
2. ATANASSOVA, S. – PAVLOV, D. – TODOROV, N. (1994): Estimation of chemical composition, net energy and protein value of lucerne by NIRS and by regression equation based on the days of vegetation or the accumulated temperature. In: *J. Anim. Feed Sci.*, vol. 3, 1994, pp. 325–335.
3. BUXTON, D.R. – REDFEARN, D.D. (1997): Plant limitations to fibre digestion and utilization. In: *J. Nutr.*, vol. 127, 1997, pp. 814–818.
4. BUXTON, D.R. – MERTENS, D.R. – MOORE, K.J. (1995): Forage quality for ruminants. Plant and animal considerations. In: *Profes. Anim. Sci.*, vol. 11, 1995, pp. 121–131.
5. BUXTON, D.R. – RUSSEL, J.R. – WEDIN, W.F. (1987): Structural neutral sugars in legume and grass stems in relation to digestibility. In: *Crop Sci.*, vol. 27, 1987, pp. 1279–1285.
6. BUXTON, D.R. – WEDIN, W.F. – MARTEN, G.C. (1985): Forage quality in stratified canopies of alfalfa, birdsfoot trefoil and red clover. In: *Crop Sci.*, vol. 25, 1985, pp. 273–279.
7. DE BOEVER, J. – ANTONIEWICZ, A.M. – BOUCQUE, CH.V. (1998): Prediction of *in situ* rumen protein degradability of grass and lucerne by chemical composition or by NIRS. In: *J. Anim. Feed Sci.*, vol. 7, 1998, pp. 437–451.
8. ČEREŠŇÁKOVÁ, Z. – CHOVANEC, J. – SOMMER, A. (1993): Vplyv vegetačnej fázy lucerny na zloženie bunečných stien a stráviteľnosť živín v sene (The effect of growth stage in alfalfa on the composition of cell walls and nutrients digestibility in hay). In: *Živoč. Vyr.*, vol. 38, 1993, pp. 875–881.
9. DEINUM, B. (1973): Structural inhibitors of quality in forage. In: *Växtdöling*, vol. 28, 1973, pp. 42–51.
10. ENGELS, F.M., – JUNG, H.-J.G. (2005): Alfalfa stem tissues. Impact of lignification and cell length

- on ruminal degradation of large particles. In: Anim. Feed Sci. Technol., vol. 120, 2005, pp. 309-321.
11. GRÓFIK, R. – FLAK, P. (1990): Štatistické metódy v poľnohospodárstve (Statistical methods in agriculture). Bratislava : Príroda, 1990, 344 p. ISBN 80-07-00018-6.
 12. HARAZIM J. – PAVELEK P. (1999): Stanovení degradability dusíkatých látek a aminokyselin metódou *in situ* v bachoru přežvýkavců (angl.??). In: Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců (sbor. z mezinár. odbor. semin.). Prague : Res. Inst. for Anim. Prod. and Section for animal production of the Czech Acad. Agric. Sci., 1999, pp. 41-46.
 13. CHRENKOVÁ, M. – ČEREŠŇÁKOVÁ, Z. – SOMMER, A. – SZAKACS, J. – FLAK, P. (1993): Einfluss des Vegetationsstadiums der Luzerne auf die Abbaubarkeit des Rohproteins im Pansen und die *in vitro* Verdaulichkeit des nichtabgeauten Rohproteins. In: Arch. Anim. Nutr., vol. 45, 1993, pp. 281-291.
 14. JUNG, H.G. (1997): Analysis of forage fiber and cell walls in ruminant nutrition. In: J. Nutr., vol. 127, 1997, pp. 810-813.
 15. LUTONSKÁ, P. – PICHL, I. (1983): Vlákna (Fibre). Bratislava : Edition of Ministry of Agriculture of the Slovak Rep., 1983, pp. 59-64.
 16. MP SR (1997): Výnos MP SR č. 1497/3/1997-100 o úradnom odbere vzoriek a laboratórnom skúšaní a hodnotení krmív (Order of Ministry of Agriculture of the Slovak Republic no. 1497/3/1997-100 about official sampling and analytical methods and evaluation of feedstuffs). In: Vestník Minist. pôdohosp. SR, vol. 29, 1997, pp. 449-582.
 17. ØRSKOV, E.R. – McDONALD, I. (1979): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. In: J. Agric. Sci., vol. 92, 1979, pp. 499-503.
 18. SANDERSON, M.A. – WEDIN, W.F. (1990): *In situ* digestion of detergent fiber nitrogen in alfalfa stems. In: Anim. Feed Sci. Technol., vol. 30, 1990, pp. 1-9.

SÚHRN

Cieľom práce bolo zistiť zmeny v obsahu N-látok a v obsahu a zložení bunkových stien lucernej sietej počas jej vývojových fáz v rámci jednotlivých kosieb. Efektívna degradovateľnosť organickej hmoty a N-látok sa stanovili metódou *in sacco*.

Zistilo sa, že s dozrievaním rastlín sa v lucerne zvyšoval obsah bunkových stien (NDV) a všetkých ich zložiek, a to významne v rámci každej kosby. Súčasne stúpil aj podiel lignínu na obsahu neutrálne detergentnej vlákniny. Naopak, so zvyšovaním obsahu NDV klesal obsah N-látok.

So zvyšovaním obsahu bunkových stien (a najmä lignínu) klesala efektívna degradovateľnosť organickej hmoty i N-látok v jednotlivých odberoch, čo potvrdzujú vysoko významné hodnoty F-testu. Rozdiely medzi kosbami (F-test) boli významné len pre efektívnu degradovateľnosť N-látok.

Všetky korelácie a regresné koeficienty medzi obsahom NDV, ADV, celulózy, lignínu a efektívnou degradovateľnosťou organickej hmoty a N-látok boli vysoko významné. Efektívna degradovateľnosť organickej hmoty najviac závisela od obsahu NDV ($r_B = -0,776$) a od obsahu lignínu ($r_B = -0,9256$). Vysoká bola aj závislosť efektívnej degradovateľnosti N-látok od obsahu NDV, ADV a lignínu.

Kľúčové slová: lucerna, bunkové steny, lignín, efektívna degradovateľnosť, N-látky, organická hmota