

**PROSESSOITU HÄRKÄPAPU RYPSIN KORVAAJANA
LYPSYLEHMIEN RUOKINNASSA JA
PÖTISISUOJATTU METIONIINI SEN TÄYDENTÄJÄNÄ**

Olli Pitkänen
Maisterintutkielma
Kotieläinten ravitsemustiede
Helsingin yliopisto
Maataloustieteiden osasto
Maaliskuu 2021

TIIVISTELMÄ

HELSINGIN YLIOPISTO - HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty		Osasto — Sektion — Department	
Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Maataloustieteiden osasto	
Tekijä — Författare — Author			
Olli Pitkänen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title			
Prosessoitu härkäpapu rypsin korvaajana lypsylehmien ruokinnassa ja pötsisuojutettu metioniini sen täydentäjänä			
Oppiaine — Läroämne — Subject			
Kotieläinten ravitsemustiede			
Työn laji — Arbetets art — Level		Aika — Datum — Month and year	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages
Maisterintutkielma		maaliskuu 2021	42
Tiivistelmä — Referent - Abstract			
<p>Härkäpapua (<i>Vicia faba</i>) pidetään lupaavana valkuaiskasvina, jolla voidaan parantaa rehuomavaraisuutta. Sellaisenaan se ei kuitenkaan ole osoittautunut rypsin veroiseksi valkuaisrehuksi lypsylehmille.</p> <p>Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää teollisesti kuumennuskäsitellyn ja kuoritun härkäpavun (härkäpapuruuhe) soveltuvuutta rypsirouheen korvaajaksi maidontuotannossa joko sellaisenaan tai pötsisuojutulla metioniinilla täydennettynä. Tutkimus toteutettiin kolme kertaa toistettuna 4 x 4 latinalaisena neliönä. Tutkimuksessa oli 12 useamman kerran poikittua ayrshire-rotuista lehmää, joista 4 oli pötsifistelöityjä. Lehmät saivat vapaasti seosrehua, joka koostui timotei-nurminatasäilörehusta, viljapohjaisesta väkirehusta ja isonitrogeenisestä valkuaislisästä. Ruokintoina olivat valkuaislisätön kontrolli, rypsirouheruokinta, härkäpapuruheruokinta sekä härkäpapuruheruokinta ja pötsisuojutettu metioniini. Tutkimuksessa mitattiin rehun ja ravintoaineiden saanti ja näennäinen kokonaissulavuus, maitotuotokset ja maidon pitoisuudet, pötsin pH ja haihtuvien rasvahappojen ja ammoniumtyypen pitoisuudet sekä plasman aminohappojen ja aineenvaihduntatuotteiden pitoisuudet. Tulokset analysoitiin tilastollisesti SAS-ohjelmiston Mixed-proseduurilla.</p> <p>Valkuaislisä lisäsi kuiva-aineen syöntiä 1,3 kg/pv ja maitotuotosta 1,2 kg/pv verrattuna kontrolliruokintaan, jossa kuiva-aineen syönti oli 22,5 kg/pv ja maitotuotos 30,7 kg/pv. Se myös lisäsi maidon valkuaispitoisuutta ja valkuais- ja rasvatuotoksia. Rypsin korvaaminen härkäpapuruuheella pienensi kuiva-aineen syöntiä, mutta maitotuotoksessa tai maidon pitoisuuksissa ei ollut eroja. Metioniinitäydennys lisäsi maidon valkuaispitoisuutta, mutta ei vaikuttanut maito-, valkuais- tai rasvatuotokseen. Ruokinnan valkuaisistäydennys lisäsi aminohappojen saantia, ja härkäpapuruokinnassa välttämättömien aminohappojen saanti oli pienempi kuin rypsirookinnassa. Plasman välttämättömien aminohappojen pitoisuus oli valkuaisruokinnassa kontrolliruokintaa suurempi, mutta valkuaisruokintojen välisiä eroja ei ollut huolimatta erosta aminohappojen saannissa. Metioniinilisää saaneiden lehmien plasman metioniinipitoisuus oli suurempi (30,8 mmol/l verrattuna 18,2 mmol/l ilman lisää), mutta muiden aminohappojen pitoisuudet eivät eronneet.</p> <p>Tutkimuksen perusteella teollisesti käsitelty härkäpapu olisi rypsin veroinen valkuaisrehu, mutta valkuaisrehujen verrattain pienen tuotosvasteen vuoksi tuloksia on tulkittava maltillisesti. Pötsisuojutun metioniinilisän vaikutus tuotokseen oli vähäinen, ja sen käytöstä härkäpapuruokinnan aminohappokoostumuksen täydentämiseen tarvitaan lisätutkimusta.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords			
Rypsirouhe, härkäpapu, lypsykarja, pötsisuojutettu metioniini			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited			
Maataloustieteiden maisteriohjelma, maataloustieteiden osasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information			
Työn ohjaajat Anni Halmemies-Beauchet-Filleau ja Aila Vanhatalo			

ABSTRACT

HELSINGIN YLIOPISTO - HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty		Osasto — Sektion — Department	
Faculty of Agriculture and Forestry		Department of Agricultural Sciences	
Tekijä — Författare — Author			
Olli Pitkänen			
Työn nimi — Arbetets titel — Title			
Processed faba bean as a substitute for rapeseed meal with or without rumen protected methionine supplement in dairy cow diets			
Oppiaine — Läroämne — Subject			
Animal science			
Työn laji — Arbetets art — Level		Aika — Datum — Month and year	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages
Master's thesis		February 2021	42
Tiivistelmä — Referent - Abstract			
<p>Faba bean (<i>Vicia faba</i>) is considered as promising protein plant for increasing protein self-sufficiency. Still, raw faba bean has not been as good protein feed for dairy cows as rapeseed meal.</p> <p>This experiment was conducted to test industrially heat-treated and dehulled faba bean as replacement for rapeseed meal in dairy cows either alone or with rumen-protected methionine. The experiment was designed as three times repeated 4 × 4 latin square. Cows were fed <i>ad libitum</i> total-mixed-ration, which consisted of timothy and meadow fescue silage, cereal based concentrate, and isonitrogenous protein component. The four feedings were control feeding without protein concentrate, rapeseed meal feeding, faba bean feeding, and faba bean feeding with rumen-protected methionine. Feed and nutrients intake and apparent whole-tract digestibility, milk yield and its composition, ruminal pH, volatile fatty acids and ammonia, and plasma amino acids and metabolites were measured. Results were statistically analysed using the Mixed-procedure of SAS-program.</p> <p>Protein feeds increased dry matter intake 1.3 kg/d and milk yield 1.2 kg/d compared to control feeding (dry matter intake 22.5 kg/d and milk yield 30.7 kg/d), and they increased milk protein concentration and protein and fat yields compared to control. Substitution of rapeseed with faba bean decreased dry matter intake but milk yield and milk protein and fat concentration remained unchanged. Rumen-protected methionine increased milk protein concentration but did not have any effect on milk, protein or fat yields. Amino acid intake increased when protein feeds were fed, and cows given rapeseed had higher amino acid intake compared to those given faba bean. Essential amino acid concentration in plasma was higher with increased feed protein level but there were no differences between rapeseed and faba bean diets despite difference in amino acid intake. Rumen-protected methionine increased plasma methionine concentration (30.8 mmol/l compared to 18.2 mmol/l) but had no effect on concentrations of other amino acids.</p> <p>According to this study industrially heat-treated faba bean would be comparable protein feed to rapeseed meal but the results should be interpreted cautiously due to low production responses to protein supplementation. Rumen-protected methionine had quite small impact on milk yield, and more information is needed concerning its use to balance amino acid supply on cows fed faba bean.</p>			
Avainsanat — Nyckelord — Keywords			
Rapeseed meal, faba bean, dairy cattle, rumen protected methionine			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited			
Maataloustieteiden maisteriohjelman, maataloustieteiden osasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information			
Supervisors: Anni Halmemies-Beauchet-Filleau ja Aila Vanhatalo			

Sisällys

1 Johdanto	5
1.1 Härkäpapu lypsykarjan rehuna.....	5
1.2 Tutkimuksen tavoitteet ja hypoteesit	7
2 Materiaalit ja menetelmät.....	8
2.1 Rehut ja ruokinta.....	8
2.2 Mittaukset ja analyysit	10
2.2.1 Syönti ja maitotuotos	10
2.2.2 Punnitus ja kuntoluokitus.....	10
2.2.3 Rehut ja sonnat.....	10
2.2.4 Verinäytteet.....	12
2.2.5 Pötsinäytteet.....	13
2.2.6 Tilastollinen analyysi	13
3 Tulokset.....	14
3.1 Rehujen koostumus	14
3.2 Ravintoaineiden saanti ja sulavuus	15
3.3 Pötsikäyminen.....	17
3.4 Maidontuotanto	19
3.5 Plasman aminohapot	21
4 Tulosten tarkastelu	23
4.1 Rehujen koostumus	23
4.2 Ravintoaineiden saanti ja sulavuus	24
4.3 Pötsikäyminen.....	27
4.4 Maitodontuotanto	29
4.5 Plasman aminohappopitoisuudet.....	33
5 Johtopäätökset.....	35
Kiitokset.....	36
Lähteet.....	36

1 Johdanto

Suomessa pyritään lisäämään valkuaisomavaraisuutta, johon kotieläinten rehuissa on mahdollista päästä lisäämällä palkokasvien viljelyä (Kaukovirta-Norja ym. 2015). Lehmien ruokinnassa rypsi on todettu nurmisäilörehupohjaisessa ruokinnassa soijaa paremmaksi valkuaisrehuksi (Huhtanen ym. 2011). Vaikka rypsiä ja rapsia voidaan viljellä Suomessa, on niiden yhteenlaskettu sato pudonnut vuodesta 2010 vuoteen 2019 liki 80 % (Suomen virallinen tilasto 2020). Syynä viljelyn vähenemiseen on muun muassa niiden viljelyssä käytettyjen peittäusaineiden kieltö. Vastaavasti herneen ja härkäpavun yhteenlaskettu sato on yli kaksinkertaistanut ja ylitti vuonna 2019 öljykasvien sadon (Suomen virallinen tilasto 2020).

1.1 Härkäpapu lypsykarjan rehuna

Härkäpavun on todettu soveltuvan lypsykarjan ruokintaan. Ingallsin ja McKirdyn (1974) tutkimuksessa härkäpavun maitotuotosvaste oli soija- tai rypsirouheen veroinen maissisäilörehupohjaisessa ruokinnassa, eikä maitotuotos ole muissakaan tutkimuksissa vähentynyt härkäpavun korvatesa soijaa (Ingalls ym. 1980, Tufarelli ym. 2012, Cherif ym. 2018). Kuitenkin sinimailasvaltaista karkearehua saaneet lehmät lypsivät vähemmän annettaessa herne-härkäpapuseosta kuin soijarouhetta (Mordenti ym. 2007). Tyypillisessä suomalaisessa nurmiruokinnassa härkäpapu on osoittautunut rypsiä huonommaksi vaihtoehdoksi (Ramin ym. 2017, Lamminen ym. 2019), mikä on korostunut voimakkaassa valkuaisruokinnassa (Puhakka ym. 2016). Lisäksi muiden tutkimusten kanssa ristiriitainen tulos on Puhakan ym. (2014) ensimmäisestä kokeesta, jossa härkäpapu lisäsi kuiva-aineen syöntiä ja maitotuotosta rypsiin verrattuna.

Jotta härkäpapu korvaisi rypsin lypsykarjan ruokinnassa, olisi siitä saatava riittävästi hyvälaatuisia ohitusvalkuaisia, jota on pyritty lisäämään käyttäen erilaisia kuumennuskäsittelyjä. Rehuteollisuudessa käytetyn ekstrusion on todettu vähentävän härkäpavun valkuaisen hajoamista pötsissä (Cros ym. 1991, Benchaar ym. 1994, Masoero ym. 2005). Myös paahtaminen on todettu tehokkaaksi keinoksi, kunhan lämpötila on riittävän korkea (Yu ym. 1998a, Masoero ym. 2005). Liian voimakas kuumennus (korkea lämpötila ja pitkä käsittelyaika) kuitenkin heikentävät valkuaisen ja hiilihydraattien sulavuutta ohutsuolessa, jolloin käsittely on jopa haitaksi (Vaga ym. 2017, Mendewski ym. 2019). Käsittelylämpötilaa voidaan laskea käyttämällä paineistettua höyryä kuumentamisessa (Vaga ym. 2017).

Vaikka paahtaminen ei pienentäisikään valkuaisen pötsihajoavuutta yhtä hyvin kuin ekstruusio, ei se lisää tärkkelyksen hajoamista ja käymistä pötsissä kuten ekstruusio (Yu ym. 1998b, Masoero ym. 2005). Periaatteessa tärkkelyksen sulatus ohutsuolessa on hyöty-suhteeltaan parempi kuin pötsikäyminen (McDonald ym. 2011, s. 186). Käytännössä sulatuksen siirtämistä pötsistä ohutsuoleen ei ole osoitettu niin hyödylliseksi, sillä tärkkelyksen ohutsuolisulavuus ja glukoosin imeytyminen voivat rajoittaa ohitustärkkelyksen hyödyntämistä (Nocek ja Tamminga 1991, Firkins ym. 2001, Harmon ym. 2004). Goeleman ym. (1999) mukaan painepaahtaminen on huomattavasti pelletointia tai ekspandointia tehokkaampi tapa vähentää sekä valkuaisen että tärkkelyksen pötsihajoavuutta. Vaikka paineistettua höyryä käytettäessä tärkkelys gelatinisoitui, ei sen pötsihajoavuus lisääntynyt toisin kuin ekspandoinnissa ja pelletoinnissa. Tärkkelyksen suurempi hajoavuus pötsissä liittyneekin rakenteen murskaantumiseen käytettäessä näitä menetelmiä (Goelema ym. 1999).

Vaikka palkokasvien siementen kuumennuskäsittelyä on tutkittu, vertailuja raakojen ja käsiteltyjen siementen vaikutuksista maidontuotantoon on niukasti. Singhin ym. (1995) tutkimuksessa lupiininsiementen paahtaminen lisäsi maitotuotosta, mutta Petitin ym. (1997) tutkimuksessa herneiden ekstruusio ei vaikuttanut. Viime aikoina on tutkittu myös härkäpapujen kuumennuskäsittelyä, jolloin paahtamiselle ei ole saatu tuotosvastetta (Ramin ym. 2017). Syynä voi olla Raminin ym. (2017) käyttämä liian kevyt käsittely, sillä käsittelyaika oli lyhyt (8 min) verrattuna muihin kuivapaahtoa käyttäneisiin tutkimuksiin (15–45 min, Yu ym. 1998a, Masoero ym. 2005, Vaga ym. 2017). Lisäksi sekä Yu ym. (1998a) että Vaga ym. (2017) totesivat korkeimman lämpötilan (150°C tai 160°C) lisäävän vaikutusta alempaan lämpötilaan (130°C tai 150°C) verrattuna. Vaikka haluttu vaikutus valkuaisen hajoituksen siirtymisestä ohutsuoleen saataisiin, se ei välttämättä silti näy maitotuotoksessa (Mendowski ym. 2020). Yleensä ottaen kuumennuskäsittelytutkimusten vertailu on vaikeaa, koska käytettyjä menetelmiä on paljon ja käytetyt lämpötilat, käsittelyajat ja muut käsittelyolosuhteet vaihtelevat, eikä niitä aina edes mainita (Mendowski ym. 2020). Sitä paitsi menetelmien vaikutus eri palkokasveihin on tutkimuksissa ollut ristiriitainen. Aguilera ym. (1992) tutkimuksessa autoklavointi pienensi härkäpavun pötsihajoavuutta vähemmän kuin herneen ja lupiinin. Sen sijaan Vagan ym. (2017) tutkimuksessa autoklavointi ja Masoeron ym. (2005) tutkimuksessa ekstruusio vaikutti lupiiniin muita vähemmän. Goelema ym. (1998) puolestaan eivät havainneet eroja painepaahtamisen vaikutuksessa lupiiniin, herneeseen tai härkäpapuun.

Toinen tapa parantaa valkuaisen hyväksikäyttöä on optimoida imeytyvän valkuaisen aminohappokoostumusta. Yleisesti maidontuotannon rajoittavina aminohappoina on pidetty ensisijaisesti lysiiniä ja toissijaisesti metioniinia (Schwab ym. 1976, Rogers ym. 1987, Rulquin ym. 1993), mutta Suomessa tyypillisessä nurmiruokinnassa histidiini on todettu eniten rajoittavaksi eikä yksiselitteistä seuraavaksi rajoittavaa aminohappoa ole pystytty selvittämään (Vanhatalo ym. 1999, Korhonen ym. 2000, Huhtanen ym. 2002). Suomalaisen rehutaulukoiden (Luke 2020) mukaan härkävavun valkuaisen histidiinipitoisuus on samaa luokkaa kuin rypsi- ja soijarouheessa (2,6–2,8 g/100 g rv) kuten myös lysiinipitoisuus (5,9–6,1 g/100 g rv). Sen sijaan metioniinipitoisuus on huomattavasti alhaisempi härkävavussa (0,6 g/100 g rv) kuin soijarouheessa (1,4 g/100 g rv) tai varsinkaan rypsirouheessa (1,8 g/100 g rv). Härkävavun valkuaisen pieni metioniinipitoisuus mainitaan jo varhain (Ingalls ym. 1980), mutta se ei ole ollut ongelma verrattaessa härkävavun tuotosvastetta soijaan. Yleisesti pötsihajotukselta suojattuja aminohappoja on tutkittu laajasti täydentämään ohutsuoletta imeytyvien aminohappojen koostumusta eri ruokinnoissa. Niitä käyttämällä on saatu lisättyä maitotuotosta (Schwab ym. 1976, Iwanska ym. 1999, Lee ym. 2012), vaikkakaan selvää tuotosvastetta ei läheskään aina ole saavutettu (Patton 2010, Zanton ym. 2014).

1.2 Tutkimuksen tavoitteet ja hypoteesit

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää teollisesti käsitellyn härkävavun ja pötsisuojatun metioniinin soveltuvuutta rypsirouheen korvaamiseen maidontuotannossa. Aiempien tutkimusten perusteella härkävavun ei vaikuta rypsin veroiselta valkuaislähteeltä nurmiruokinnassa. Metioniinin lisääminen ruokintaan vaikuttaa lupaavalta keinolta lisätä härkävavun tuotosvastetta, koska suurin rypsin ja härkävavun aminohappokoostumuksessa on härkävavun alhainen metioniinipitoisuus. Tiedossa on vain muutama tutkimus härkävavun kuumennuskäsittelyn vaikutuksesta maidontuotantoon (Ramin ym. 2017, Mendowski ym. 2019, 2020) eikä yhtään tutkimusta, jossa olisi tutkittu pötsisuojatun metioniinin käyttöä härkävavuruokinnan lisänä. Tutkimuksen hypoteesina on, että teollisesti lämpökäsitellyn ja kuoritun härkävavun (härkävavuruouhe) maitotuotosvaste on rypsiä pienempi. Toisena hypoteesina on, että pötsisuojatun metioniinin käyttö tehostaa prosessoidun härkävavun valkuaisen hyväksikäyttöä maidontuotannossa.

2 Materiaalit ja menetelmät

Tutkimus tehtiin Helsingin yliopiston Viikin opetus- ja tutkimustilan navetassa 2.2.2019–26.4.2019. Tutkimukseen valittiin 12 useamman kerran poikinutta ayrshire-rotuista lypsy-lehmää, jotka olivat poikineet keskimäärin 96 päivää (keskihajonta 14,6 pv) ennen kokeen alkua. Lehmien elopaino kokeen alussa oli keskimäärin 688 kg (keskihajonta 67,7 kg) ja lopussa 710 kg (keskihajonta 60,0 kg) ja kuntoluokka kokeen alussa keskimäärin 3,02 (keskihajonta 0,524) ja lopussa 3,22 (keskihajonta 0,574). Tutkimus toteutettiin kolme kertaa toistettuna tasapainotettuna 4 × 4 latinalaisena neliönä, jossa oli neljä jaksoa ja neljä ruokintaa. Lehmät jaettiin kolmeen neljän lehmän neliöön, joista ensimmäisen muodostivat pötsifistelöidyt lehmät 1–4, toisen lehmät 5–8 ja kolmannen lehmät 9–12. Jakson pituus kokeessa oli kolme viikkoa, joista kaksi ensimmäistä totutusviikkoja ja kolmas keruuviikko. Kokeen aikana lehmä 11 sairastui toistuvasti utaretulehdukseen, minkä vuoksi sen kolmannen ja neljännen jakson tulokset jouduttiin hylkäämään.

2.1 Rehut ja ruokinta

Kokeessa oli neljä ruokintaa, joiden koostumus valkuaislisää lukuun ottamatta oli sama. Kontrolliruokinnassa (KON) väkirehuna oli ohran, kauran ja melassileikkeen seos. Vertailtavina valkuaisruokintoina olivat rypsirouheruokinta (RR) ja härkäpapuruouheruokinta (HR). Neljäntenä oli härkäpapuruouheruokinta ja pötsisuoajattu metioniini (HRM). Kokeessa oli seosrehuruokinta ja kolme eri seosta (taulukko 1). Molemmissa härkäpapuruouheruokinnissa (HR ja HRM) käytettiin samaa seosta, ja pötsisuoajattu metioniini annettiin erikseen. Seokset laskettiin niin, että raakavalkeaisen saanti rypsiä ja härkäpavusta oli yhtä suuri. Tällöin rypsiroheseoksessa rypsiä oli 11,5 % ja härkäpavuheseoksessa härkäpapua 13,2 %. Ohraa ja kauraa sisällytettiin seokseen suhteessa 2:1 niin, että väkirehun osuus kaikissa seoksissa oli 50 %. Käytetyt viljat olivat tilalla viljeltyjä ja valssimyllyllä litistettyjä. Rypsirouhe ja melassileike olivat pelletöityjä kaupallisia rehuja (Lantmännen Agro Oy, Vantaa, Suomi). Härkäpapuruuhe oli teollisesti käsiteltyä härkäpapua, mikä tarkoittaa papujen kuorimista, litistämistä, hiutaloitinta ja DTDC-kuumennuskäsittelyä (Nordic Soya Oy, Uusikaupunki, Suomi).

Karkearehu oli esikuivattua toisen sadon timotei-nurminatasäilörehua (*Phleum pratense*, *Festuca pratensis*), joka oli korjattu 25.7.2018 niittomurskaimella (Krone EasyCut 3210 CV, Maschinenfabrik Bernard Krone GmbH, Spelle, Saksa) ja noukinvaunulla (Krone XXL R/GL) ja säilötty käyttäen muurahaishappopohjaista säilöntäainetta (AIV 2 Plus 5-

6 l/tn; Taminco Finland Oy, Oulu, Suomi) laakasiiloon. Säilörehun kuiva-aine ja pH määritettiin joka rehuntekokerta. Koska säilörehu oli kuivaa (keskimäärin 464 g ka/kg), lisättiin säilörehuun vettä rehusekoittimessa (CutMix, Pellon Group, Ylihärmä, Suomi) ennen väki- ja karkearehujen sekoittamista rehuvaunussa (TMR-SUK M2, Pellon Group). Tavoiteltu säilörehun kuiva-ainepitoisuus vesilisäyksen jälkeen oli 400 g ka/kg. Karkearehu punnittiin rehuvaunun vaa'alla ja väkirehut 10 gramman tarkkuudella rehuvaa'alla (ITB 60K10DLIPM, Kern & Sohn GmbH, Balingen, Saksa). Seosrehua tehtiin kolmesti viikossa ja rehut varastoitiin kylmiöön.

Taulukko 1. Seosrehujen koostumus. Rehukomponenttien toteutuneet osuudet seoksen kuiva-aineesta.

Rehu	Valkuais-lisätön kontrolli (%)	Rypsirouhe (%)	Härkäpapuruhe (%)
Timotei-nurminata säilörehu	50,1	50,1	50,1
Ohra	27,6	20,0	18,9
Kaura	13,8	10,0	9,41
Melassileike (Raisioagro Opti Leike)	6,74	6,74	6,74
Kivennäinen (Raisioagro Se-E-Melli TMR)	1,72	1,72	1,72
Rypsirouhe (Raisioagro Opti Rypsi)		11,5	
Härkäpapuruhe (Nordic Soya)			13,2

Seosrehua annettiin vapaasti ja rehunjaossa pyrittiin noin 5–6 kiloon tähteitä päivässä. Rehua jaettiin kolmesti päivässä eli aamulla klo 9, iltapäivällä klo 13–15 ja illalla klo 19–20. Rehukupit tyhjennettiin aamulla ennen ensimmäistä jakoa. Seosrehun lisäksi lehmät saivat 1 kg melassileikettä, joka jaettiin puoliksi aamu- ja puoliksi iltalypsyllä. Metioniinilisää saaville lehmille sekoitettiin melassileikkeeseen 23,7 g pötsisuojuuttua metioniinia (Smar-tamine M, Kemin Europa, Herentals, Belgia), joka punnittiin analyysivaa'alla (XT6200C, Precisa Gravimetrics AG, Dietikon, Sveitsi) 0,1 g tarkkuudella. Ohutsuolesta imeytyvän lisämetioniinin määrä oli tällöin valmistajan antamien tietojen mukaan 15 g/pv. Lehmät lypsettiin kaksi kertaa päivässä, klo 6 ja klo 17.

2.2 Mittaukset ja analyysit

2.2.1 Syönti ja maitotuotos

Kokeen aikana lehmien rehunsyöntiä ja maitomäärää seurattiin päivittäin. Tutkimuksessa käytettiin keruuviikon ensimmäisen kuuden päivän keskiarvoa. Lehmien syönnit mitattiin rehukuppien automaattisen rehunkulutuksen seurantajärjestelmän vaa'alla (Roughage Intake Control, Insentec, Marknesse, Hollanti). Kuppien lukemat kirjattiin ylös aina rehua jaettaessa ja aamulla ennen kuppien tyhjennystä.

Maitomäärät mitattiin maitomittareilla (WB Auto Sampler, Tru-Test, Auckland, Uusi-Seelanti), josta lypsäjä luki maitomäärän. Maitonäytteet (20 ml) otettiin keruuviikon neljältä perättäiseltä lypsykerralta ja analysoitiin Valion laboratoriossa infrapuna-analysointorilla (Milco Scan FT 6000, Foss, Hillerød, Tanska). Maitonäytteissä käytettiin säilöntäaineena Bronopol-pillereitä (Valio Oy, Helsinki, Suomi).

2.2.2 Punnitus ja kuntoluokitus

Lehmät punnittiin kahtena peräkkäisenä päivänä ennen koetta ja sen jälkeen eläinvaa'alla (CV 9600 Scale, Solotop Oy, Helsinki, Suomi). Eläimet kuntoluokitettiin ennen koetta ja jokaisen jakson jälkeen. Kuntoluokituksessa (Edmonson ym. 1989) arvioitiin kahdeksaa eri kohtaa neljäsosapisteen tarkkuudella ja laskettiin näistä keskiarvo.

2.2.3 Rehut ja sonnat

Keruuviikolla otettiin jokaisena kolmesta rehuntekokerrasta n. 750 ml näyte seosrehurehun väkirehuista ja n. 2 kg näyte säilörehusta ja varanäyte jokaisesta valmiista seoksesta. Näytteet varastoitettiin pakastimeen (-20 °C). Näytteet yhdistettiin jaksoittain, paitsi kivennäisnäyte, joka yhdistettiin koko kokeen ajalta. Seosrehuista otettuja varanäytteitä ei tarvittu, vaan seosrehujen ravintoainekoostumukset laskettiin väki- ja säilörehunäytteiden perusteella. Sontanäytteet (750 ml) otettiin lehmillä 1–8. Ne kerättiin neljänä perättäisenä päivänä klo 8 ja klo 15 peräsuolesta, ja kunkin lehmän näytteet säilöttiin pakastimeen (-20 °C) keruuviikon ajalta yhdeksi näytteeksi.

Primäärinen kuiva-aine määritettiin kuivaamalla näytettä lämpökaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Schwabach, Saksa) 103 °C :ssa 20–24 tuntia. Säilörehun kuivauksessa haihtuneet orgaaniset aineet otettiin huomioon laskemalla korjattu kuiva-ainepitoisuus Huidan

ym. (1986) kaavalla. Säilörehun pH mitattiin pH-mittarilla (S20 SevenEasy™ pH, Mettler-Toledo Ltd, Leicester, Iso-Britannia). Säilörehusta analysoitiin maitohappo, haihtuvat rasvahapot (VFA), pelkistävät sokerit, ammoniumtyppi ja etanoli. Maitohappo ja haihtuvat rasvahapot analysoitiin nestekromatografilla (Waters Acquity UPLC, Waters, Milford, MA, Yhdysvallat), käyttäen kolonnia (186004097, Waters MassTrak AAA) Puhakan ym. (2016) kuvauksen mukaan. Kolorimetrillä analysoitiin spektrofotometrillä (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Saksa) sokerit Somogyin (1945) ja Salon (1965) menetelmällä, ammoniumtyppi McCulloughin (1967) menetelmällä ja etanoli entsyymikitillä (cat. No 176290, R-Biopharm AG, Darmstadt, Saksa).

Muita analyysejä varten näytteitä kuivattiin lämpökaapissa ensin tunti 103 °C:ssa, minkä jälkeen rehuja 50 °C:ssa ja sontia 70 °C:ssa kaksi vuorokautta. Kuivatut rehunäytteet jauhettiin vasaramyllyllä (sakomylly KT-3100, Koneteollisuus Oy, Helsinki, Suomi) käyttäen 1 mm seulaa ja sontanäytteet käyttäen 1,5 mm seulaa. Eri rehuista tehdyt analyysit on koottu taulukkoon 2.

Taulukko 2. Rehuista ja sonnista tehdyt analyysit.

	Säilörehu	Väkirehut	Kivennäinen	Sonnat
Primäärinen kuiva-aine	x	x	x	x
pH	x			
Erikoisanalyysi (maitohappo, haihtuvat rasvahapot, pelkistävät sokerit, ammoniumtyppi, etanoli)	x			
Kuivatusta analyysinäytteestä				
Sekundäärinen kuiva-aine	x	x	x	x
Tuhka	x	x	x	x
Raakavalkuainen	x	x		
Neutraalidetergenttikuitu (NDF)	x	x		x
In vitro -sellulaasisulavuus	x			
Happoon liukenematon tuhkaa (AIA)	x	x	x	x
Aminohapot	x	x		
Kokonaisrasva		x		
Tärkkelys		x		x

Sekundäärinen kuiva-aine määritettiin kuivaamalla jauhettua näytettä lämpökaapissa 17 tuntia 103 °C:ssa. Tuhka mitattiin polttamalla näyte muhveliuunissa (Heraeus Thermicon T, Heraeus, Hanau, Saksa) 600 °C:ssa 20–24 tuntia. Happoon liukenematon tuhka (AIA) mitattiin Van Keulenin ja Youngin (1977) menetelmällä.

Raakavalkuainen mitattiin Kjeldahl-menetelmällä. Aminohapponäytteitä hydrolysoitiin 23 tuntia (6 M HCl, 110 °C), mitä ennen metioniini- ja kysteiininäytteet oli hapetettu permuurahaishapolla. Hydrolysoidut näytteet analysoitiin direktiivin 98/64/EC (Euroopan Komissio 1998) mukaisesti nestekromatografilla (Waters Acquity UPLC), jossa BEH C18 kolonni (100 mm × 2.1 mm) valmistajan ohjeiden mukaisesti.

Säilörehun orgaanisen aineen sulavuus määritettiin *in vitro* pepsini-sellulaasi-menetelmällä (Friedel 1990) käyttäen Nousiaisen ym. (2003) muunnelmaa. Tulokset muunnettiin *in vivo* -sulavuutta vastaaviksi käyttämällä Huhtasen ym. (2006) korjausyhtälöitä. Neutraalidetergenttikuitu (NDF) analysoitiin keitto- ja suodatuslaitteistolla (Fibretherm FT 12, C. Gerhardt, Königswinter, Saksa) käyttäen Van Soestin ym. (1991) menetelmää. Väkirehujen tärkkelys määritettiin amyloglukosidaasi- ja α -amylaasimenetelmällä käyttäen K-TSTA-kittiä (Megazyme, Co. Wicklow, Irlanti) ja spektrofotometriä (Shimadzu UV-VIS mini 1240). Menetelmästä käytettiin valmistajan työohjeen versiota c, jota kuitenkin edelsi etanoli pesu ohjeen e kohtien 1–5 mukaan (AOAC:n menetelmä 996.11). Väkirehujen kokonaisrasvapitoisuus määritettiin petrolietteriuutolla suolahappohydrolyysin jälkeen Fossin laitteistolla (SoxCap 2047 hydrolyysilaitte ja Soxtec 8000 uuttolaitte).

2.2.4 Verinäytteet

Verinäytteet otettiin lehmistä 1–8 keruuviikon viimeisenä päivänä klo 8, klo 11 ja klo 14. Kullakin kertaa otettiin häntäsuonesta kaksi ja maitosuonesta yksi EDTA-vakuumputkellinen (9 ml) verta. Putket säilöttiin jäihin, kunnes niitä sentrifugoitiin huoneenlämmössä $2220 \times g$ 10 minuuttia. Plasma pakastettiin (−20 °C).

Plasmoista analysoitiin Konelab 30i-laitteella (Konelab Oy, Espoo, Suomi) glukoosi Glucose GOD-POD -kitillä (Thermo Fisher Scientific Oy, Vantaa, Suomi), vapaat rasvahapot NEFA-HR(2)-kitillä (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Saksa) ja β -hydroksivoihappo Rant-but-kitillä (Randox Laboratories, Crumlin, Iso-Britannia). Etikkahappo ja aminohapot analysoitiin nestekromatografilla (Waters Acquity UPLC), käyttäen kolonnia (186004097, Waters MassTrak AAA). Etikkahapon analyysimenetelmä on kuvattu Halmemies-Beauchet-Filleaun ym. (2017) ja aminohappojen Puhakan ym. (2016) julkaisussa. Aminohappojen eritystehokkuus maitorauhaseen (%) laskettiin kaavalla $\frac{V-L}{L}$ ja aminohappojen otto maitorauhaseen (mmol/pv) kaavalla $(V - L) \times Q$, joissa V = aminohapon pitoisuus

valtimoplasmassa, L = aminohapon pitoisuus laskimoplasmassa ja Q = plasman virtaus maitorauhaseen arvioituna Fickin säännön mukaan kaavalla, joka perustuu fenyyialaniinin ja tyrosiinin siirtymiseen plasmasta maitovalkuaiseen (Cant ym. 1993).

2.2.5 Pötsinäytteet

Pötsinesteestä otettiin näytteet keruuviikon toiseksi viimeisenä päivänä pötsifistelöidyiltä lehmillä klo 8, klo 9.30, klo 11, klo 12.30, klo 14 ja klo 15.30. Pötsineste suodatettiin harsokankaan läpi ja siitä mitattiin pH (S20 SevenEasy™ pH). Haihtuvien rasvahappojen määrittämistä varten otettiin pötsinesteestä 5 ml näyte, johon lisättiin 0,5 ml kyllästettyä elohopeakloridia ja 2 ml 1 N NaOH. Ammoniumtyypen määrittämistä varten otettiin 15 ml pötsinestettä, johon lisättiin 0,3 ml 50 % H_2SO_4 . Molemmat näytteet pakastettiin (-20 °C). Ammoniumtyyppi ja haihtuvat rasvahapot analysoitiin kuten säilörehusta on yllä kuvattu.

2.2.6 Tilastollinen analyysi

Tulosten tilastollinen analyysi tehtiin SAS-ohjelmiston (versio 9.4 SAS Institute Inc., Cary, Yhdysvallat) Mixed-proseduurilla. Varianssianalysissä kiinteitä muuttujia olivat neliön vaikutus, jakson vaikutus neliössä ja ruokinnan vaikutus. Satunnaismuuttujana oli lehmän vaikutus neliössä. Pötsikäyminen analysoitiin toistettujen mittauksen mallilla, jossa kiinteinä muuttujina olivat jakso, ruokinta, näytteenottoaika, jakso \times näytteenottoaika ja ruokinta \times näytteenottoaika. Satunnaismuuttujina olivat lehmä, lehmä \times jakso \times ruokinta ja lehmä \times aika. Ruokintojen väliset erot analysoitiin ortogonaalisilla kontrasteilla, joissa vertailtiin 1) kontrolliruokintaa ja muita ruokintoja (KON vs. muut), 2) rypsirouhe- ja härkäpapuruokintoja (RR vs. HR ja HRM) ja 3) metioniinilisän vaikutusta härkäpapuruokintaan (HR vs. HRM). Tulosten tilastollista merkitsevyyttä kuvataan p-arvolla, jossa $p < 0,001$ tarkoittaa ruokintojen välisen eron olevan erittäin merkitsevä, $p < 0,01$ hyvin merkitsevä, $p < 0,05$ merkitsevä ja $p < 0,10$ suuntaa antava. Pötsikäymisen osalta arvot ja merkitsevyydet on ilmoitettu erikseen kullekin ajanhetkelle, mikäli käsittelyn ja näytteenottoajan välinen yhdysvaikutus on ollut merkitsevä ($p < 0,05$). Muutoin on käytetty keskiarvoja näytteenottoaikojen yli.

3 Tulokset

3.1 Rehujen koostumus

Kokeessa käytetty säilörehu ei ollut kovin sulavaa, mutta sen raakavalkuaispitoisuus oli melko suuri (taulukko 3). Säilörehu oli siilossa erittäin kuivaa ja veden lisäyksen jälkeenkin sen kuiva-ainepitoisuus oli noin 400 g/kg, ja seosrehujen kuiva-ainepitoisuus oli noin 550 g/kg. Härkäpavun raakavalkuaispitoisuus oli rypsiä pienempi, mutta suurin niiden välinen ero oli tärkkelyspitoisuudessa. Rypsisissä tärkkelystä ei ollut juuri lainkaan, kun taas härkäpavun tärkkelyspitoisuus oli lähes sama kuin kauran. Vastaavasti rypsisissä oli enemmän kuitua kuin härkäpavussa. Rypsi oli härkäpapua rasvaisempaa, mutta molempien rasvapitoisuus oli selvästi pienempi kuin kauran tai melassileikkeen.

Taulukko 3. Rehujen kemiallinen koostumus.

	Säilörehu	Ohra	Kaura	Melassi- leike	Rypsi	Härkäpapu
pH	4,5					
Kuiva-aine g/kg	399	868	862	854	851	916
Kuiva-aineessa g/kg						
Tuhka	90,3	27,4	33,6	48,7	72,8	40,4
Tuhkaton NDF	486	157	287	282	235	94,7
Raakavalkuainen	175	126	129	158	394	336
Kokonaisrasva		28,5	45,5	47,0	30,2	22,7
Tärkkelys	12,9	529	377	181	16,1	351
D-arvo	658					
Maitohappo	21,5					
Etikkahappo	4,93					
Propionihappo	0,49					
Voihappo	-					
Sokerit	118					
Etanoli	1,86					
Ammoniumtypen osuus kokonaistypestä g/kg N	44,9					

NDF = neutraalidetergenttikuitu, D-arvo = sulavan orgaanisen aineen pitoisuus kuiva-aineessa

Välttämättömistä aminohapoista säilörehun valkuaisessa oli muita rehuja niukemmin arginiinia ja histidiiniä (taulukko 4). Valkuaisrehuista härkäpapuvalkuaisessa oli enemmän arginiinia ja selvästi vähemmän metioniinia kuin muussa rehuvalkuaisessa. Myös toisen rikkipitoisen aminohapon kysteiniin pitoisuus oli muiden väkirehujen valkuaisessa vähintään kaksinkertainen verrattuna härkäpapuun. Rypsi valkuaisessa oli myös enemmän histidiiniä, treoniinia, tryptofaania ja valiinia ja vähemmän lysiiniä kuin härkäpapuvalkuaisessa, mutta erot näissä olivat huomattavasti pienempiä kuin arginiinissa ja metioniinissa. Välttämättö-

mien ja ei-välttämättömien aminohappojen kokonaispitoisuuksissa ei väkirehujen valkuaisissa ollut suuria eroja. Säilörehun raakavalkuaisesta pienempi osa oli aminohappoja kuin väkirehujen.

Taulukko 4. Rehujen valkuaisen aminohappokoostumukset (g / kg raakavalkuaista).

	Säilörehu	Ohra	Kaura	Melassileike	Rypsi	Härkäpapu
Välttämättömät aminohapot						
Arginiini	34,2	49,7	59,4	50,6	55,9	87,9
Fenyylialaniini	40,4	45,8	43,0	35,8	36,3	36,9
Histidiini	13,3	18,9	18,3	22,5	22,8	19,6
Isoleusiini	34,0	29,9	30,4	32,1	35,8	36,2
Leusiini	60,9	61,0	63,2	58,3	63,0	64,7
Lysiini	33,4	31,8	33,6	41,3	48-,5	53,0
Metioniini	14,4	15,5	15,6	15,9	18,9	7,70
Treoniini	33,1	30,0	29,6	34,6	38,9	31,2
Tryptofaani	10,5	10,3	9,80	10,4	11,2	6,60
Valiini	42,6	41,7	42,0	42,4	44,3	39,1
Ei-välttämättömät aminohapot						
Alaniini	52,2	35,6	40,8	39,8	39,7	36,4
Asparagiinihappo	70,5	55,6	69,4	63,5	66,4	95,0
Glutamiinihappo	79,5	202	176	152	161	151
Glysiini	39,5	37,3	43,4	41,8	46,0	37,7
Kysteiini	9,74	25,6	35,1	23,8	26,5	13,5
Proliini	45,3	91,0	43,9	51,3	55,7	37,3
Seriini	31,1	37,2	42,1	39,2	38,4	41,8
Tyrosiini	26,4	27,2	27,8	30,5	28,5	29,8
Välttämättömät yht.	317	335	345	344	375	383
Ei-välttämättömät yht.	354	512	478	442	462	442
Aminohapot yhteensä	671	846	823	786	837	825

3.2 Ravintoaineiden saanti ja sulavuus

Kontrolliseoksen raakavalkuaispitoisuus oli 151 g/kg ka, rypsiroheseoksen 182 g/kg ka ja härkäpapuroheseoksen 178 g/kg ka. Lehmät söivät enemmän rehua, kun seosrehuun lisättiin rypsi- tai härkäpapurohettä (taulukko 5, $p < 0,001$). Kuiva-aineen syönnin lisääntyessä myös orgaanisen aineen, raakavalkuaisen ja NDF:n saannit lisääntyivät erittäin merkittävästi. Tärkkelyksen saanti sen sijaan väheni ($p < 0,001$). Rypsirohettä sisältävää seosrehua lehmät söivät noin 0,5 kg/pv enemmän kuin härkäpapua sisältävää ($p < 0,05$). Annettaessa lehmille rypsiä niiden raakavalkuaisen, kokonaisrasvan ja NDF:n saanti oli suurempi ja tärkkelyksen saanti pienempi kuin härkäpapua annettaessa ($p < 0,01$). Metioniini ei vaikuttanut lainkaan syöntiin (ero 0,1 kg/pv) eikä ravintoaineiden saantiin.

Valkuaislisä lisäsi kaikkien aminohappojen saantia ($p < 0,001$). Härkäpapuruokinnossa arginiinin saanti oli suurempi ja lysiiniä lukuun ottamatta kaikkien muiden välttämättömien aminohappojen saanti pienempi kuin rypsirookinnassa. Myös aminohappojen kokonaisuus saanti oli suurempi rypsirookinnassa kuin härkäpapuruokinnassa. Metioniinilisää saaneiden lehmien metioniinin saanti oli suunnilleen yhtä suuri (70,1 g/pv) kuin rypsirookinnassa (69,2 g/pv), kun härkäpapuruokinnassa ilman metioniinilisää se oli vain vähän suurempi (55,2 g/pv) kuin kontrollirookinnassa (50,9 g/pv). Muutoin metioniinilisä ei vaikuttanut aminohappojen saantiin.

Taulukko 5. Valkuaislisän ja pötsisuojatun metioniinin vaikutukset ravintoaineiden saantiin ja sulavuuteen.

	Käsittely				SEM	Merkitsevyys		
	KON	RR	HR	HRM		KON vs. muut	RR vs. HR+HRM	HR vs. HRM
Ravintoaineiden saanti								
kg/pv								
Kuiva-aine	22,5	24,2	23,6	23,7	0,67	<0,001	0,050	0,986
Orgaaninen aine	20,8	22,3	21,8	21,8	0,62	<0,001	0,097	0,983
Raakavalkuainen ¹	3,41	4,38	4,2	4,2	0,117	<0,001	0,002	0,945
Kokonaisrasva ¹	0,414	0,435	0,4	0,4	0,0102	0,522	<0,001	0,919
Tuhkaton NDF ¹	7,73	8,39	7,79	7,78	0,224	0,005	<0,001	0,945
Tärkkelys ¹	4,85	3,99	4,72	4,74	0,136	<0,001	<0,001	0,814
Aminohappojen saanti g/pv								
Arginiini ²	144	195	220	220	6,2	<0,001	<0,001	0,970
Fenyylialaniini	141	175	168	168	4,7	<0,001	0,003	0,944
Histidiini ¹	54,8	76,6	70,2	70,1	1,95	<0,001	<0,001	0,975
Isoleusiini	111	146	141	141	3,9	<0,001	0,004	0,930
Leusiini	208	268	260	259	7,2	<0,001	0,006	0,907
Lysiini	115	164	162	162	4,4	<0,001	0,332	0,869
Metioniini ¹	50,9	69,2	55,2	70,1	1,59	<0,001	<0,001	<0,001
Treoniini ³	110	149	135	135	3,7	<0,001	<0,001	0,897
Tryptofaani ¹	35,2	46,2	39,8	39,8	1,11	<0,001	<0,001	0,996
Valiini	144	187	175	175	4,9	<0,001	<0,001	0,919
Haaraketjuiset ^{1,4}	463	602	575	575	15,9	<0,001	0,001	0,916
Välttämättömät ^{3,5}	1110	1480	1430	1440	39	<0,001	0,014	0,490
Ei-välttämättömät ⁶	1410	1830	1730	1730	48	<0,001	<0,001	0,943
Yhteensä ^{1,7}	2520	3300	3160	3170	87	<0,001	0,001	0,782
Ravintoaineiden näennäinen kokonaissulavuus g/kg								
Kuiva-aine	681	688	699	697	5,9	0,013	0,090	0,752
Orgaaninen aine	694	704	714	712	5,7	0,008	0,135	0,762
Raakavalkuainen	619	666	665	654	12,8	0,003	0,608	0,474
Tuhkaton NDF	480	516	518	507	9,0	0,004	0,734	0,393
Tärkkelys	991	991	993	993	0,7	0,205	0,055	0,988

KON = kontrollirookinta, RR = rypsirouhuruokinta, HR = härkäpapuruuhuruokinta,

HRM = härkäpapuruuhuruokinta ja pötsisuojatun metioniini, SEM = keskiarvon keskivirhe

¹Annettu KON- ja HR-ruokintojen SEM, RR- ja HRM-ruokintojen SEM saadaan kertomalla annettu arvo luvulla 1,01.

²Kuten alaviitteessä 1, mutta kertoimena 1,02.

³Kuten alaviitteessä 1, mutta kertoimena 1,03.

⁴Isoleusiini, leusiini ja valiini

⁵Arginiini, fenyylialaniini, histidiini, isoleusiini, leusiini, lysiini, metioniini, treoniini, tryptofaani ja valiini

⁶Alaniini, asparagiini, asparagiinihappo, glutamiini, glutamiinihappo, glysiini, kysteiini, proliini, seriini ja tyrosiini

⁷Alaviitteissä 5 ja 6 luetellut

Kuiva-aineen sulavuus parani annettaessa valkuaislisää ($p < 0,05$), ja se oli härkäpapuruokinnossa suuntaa antavasti parempi kuin rypsirookinnassa. Myös orgaanisen aineen, raakavalkeaisen ja NDF:n sulavuus oli parempi valkuaisruokinnossa kuin kontrolliruokinnassa ($p < 0,01$), mutta valkuaisruokintojen välisiä eroja ei ollut. Täkkelyksen sulavuus oli tilastollisesti suuntaa antavasti suurempi härkäpapuruokinnossa kuin rypsirookinnassa mutta oli kaikissa ruokinnossa lähes täydellistä (990–992 g/kg).

3.3 Pötsikäyminen

Pötsin happamuudessa tai haihtuvien rasvahappojen kokonaispitoisuudessa ruokintojen välisiä eroja ei ollut (taulukko 6). Tärkeimpien haihtuvien rasvahappojen eli etikka-, propioni- ja voihiappojen pitoisuudet olivat samat kaikissa ruokinnossa. Kontrolliruokinnassa pötsin haihtuvista rasvahapoista pienempi osa oli valeriaanahappoa ($p < 0,05$) ja isovaleriaanahappoa ($p < 0,10$) kuin muissa ruokinnossa. Isovaleriaanahapon pitoisuus oli rypsirookinnassa härkäpapuruokintoja suurempi ($p < 0,05$). Merkittävin ero pötsin aineenvaihduntatuotteiden pitoisuuksissa oli valkuaisruokintojen kontrolliruokintaa suurempi ammoniumtyypipitoisuus ($p < 0,05$). Ammoniumtyypin pitoisuus oli pienin aamulla ensimmäisessä mittauksessa ja nousi seosrehun jaon jälkeen kaikissa ruokinnossa (kuva 1). Kontrolliruokinnassa pitoisuus oli kaikissa mittauksissa muita ruokintoja pienempi eikä noussut toisen ja kolmannen mittauksen välillä, jolloin härkäpapu- ja rypsirouruokinnossa nousu oli voimakasta. Kontrolliruokinnassa pitoisuus oli pienimmillään vain 0,855 mmol/l ja muissa ruokinnossa pienimmät pitoisuudet olivat 3,63–4,33 mmol/l, mikä on suurempi kuin kontrolliruokinnan keskimääräinen pitoisuus. Lehmien saadessa pötsisuolettua metioniinia ammoniumtyypin pitoisuus nousi aamulla rehunjaon jälkeen suuntaa antavasti nopeammin kuin niiden saadessa pelkkää härkäpapuseosrehua.

Taulukko 6. Valkuaislisän ja pötsisuojatun metioniinin vaikutukset pötsikäymiseen. Näytteenottoaikojen yli lasketut keskiarvot ruokinnoille.

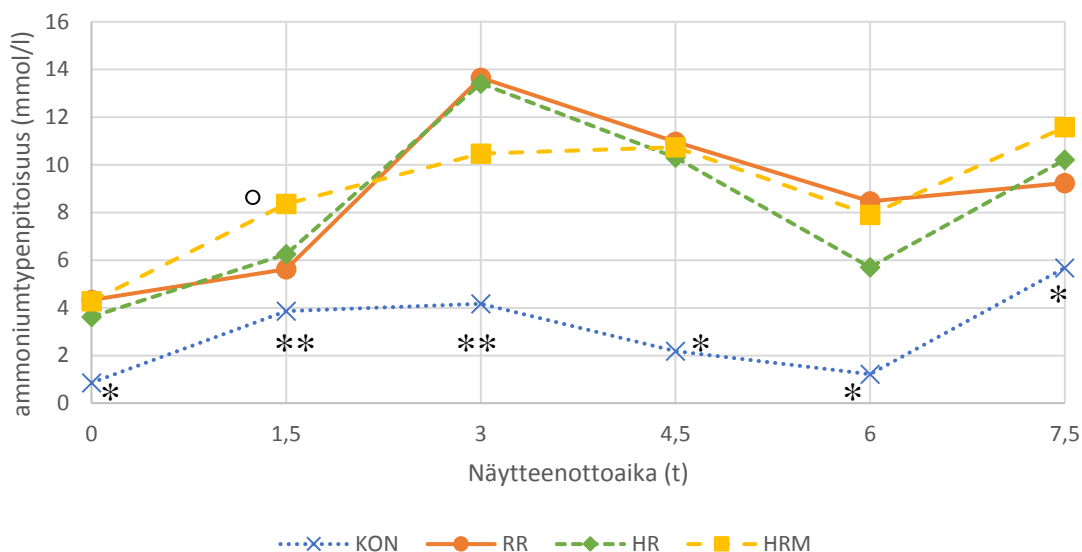
	Käsittely				SEM	Merkitsevyys		
	KON	RR	HR	HRM		KON vs, muut	RR vs, HR+HRM	HR vs, HRM
pH	6,14	6,23	6,15	6,18	0,086	0,632	0,560	0,806
Ammoniumtyppi ¹ (mmol/l)	3,00	8,71	8,25	8,89	1,414	0,011	0,934	0,746
Haihtuvat rasvahapot (mmol/l)	85,6	91,2	89,0	93,5	4,22	0,254	0,993	0,447
Osuus haihtuvista rasvahapoista (mmol/mol)								
Etikkahappo	568	565	576	562	6,8	0,941	0,552	0,164
Propionihappo	233	229	223	231	10,7	0,646	0,917	0,633
Voihappo ²	147	150	147	152	10,1	0,655	0,979	0,551
Isovoihappo	9,72	10,6	10,3	10,8	0,504	0,185	0,971	0,447
Valeriaanahappo ³	5,32	6,28	6,36	6,76	0,421	0,042	0,598	0,518
Isovaleriaanahappo	16,4	18,8	17,0	17,2	0,55	0,085	0,039	0,764
Kapronihappo	20,0	21,4	20,2	19,8	1,06	0,686	0,299	0,826

KON = kontrolliruokinta, RR = rypsirouhuokinta, HR = härkäpapuruuhuokinta, HRM = härkäpapuruuhuokinta ja pötsisuojattu metioniini, SEM = keskiarvon keskivirhe

¹Ruokinnan ja ajan välillä merkitsevä yhdysvaikutus ($p = 0,017$). Arvot näytteenottohetkittäin esitetty erillisessä kuvaajassa.

²Arvot eivät ole jakautuneet normaalisti, mutta mikään arvoista ei ollut poikkeava, eikä jakauma muuttunut normaaliksi käyttäen tavallisia Box-Cox-muunnoksia.

³Poistettu havainto 0.18, joka poikkesi huomattavasti muista havainnoista, jotka olivat välillä 1.2–2.4 (härkäpapuruuhuokinta). Muiden ruokintojen SEM saadaan kertomalla taulukoitu SEM luvulla 0.917.



Kuva 1. Ammoniumtyypen pitoisuuden vaihtelu pötsissä ajanhetkittäin ensimmäisestä näytteenotosta. Lehmien rehukupit tyhjennettiin ja jaettiin uutta seosrehua puoli tuntia ensimmäisestä näytteenotosta ja rehua lisättiin puoli tuntia toiseksi viimeisen näytteenoton jälkeen. Tilastollisesti merkitsevät erot merkitty asteriskilla, kun kontrolliruokinta erosi muista ruokinnoista (** = $p < 0,01$ ja * = $p < 0,05$), ja ympyrällä, kun pötsisuojattu metioniini vaikutti suuntaa antavasti (° = $p < 0,10$). Keskiarvon keskivirheet (SEM) olivat ajassa 0 t 1,0782, ajassa 1,5 t 1,227, ajassa 3 t 2,113, ajassa 4,5 t 2,340, ajassa 6 t 2,220 ja ajassa 7,5 t 1,171 mmol/l.

KON = kontrolliruokinta, RR = rypsirouhuokinta, HR = härkäpapuruuhuokinta, HRM = härkäpapuruuhuokinta ja pötsisuojattu metioniini,

Metioniinilisä ei vaikuttanut valtimoverestä mitattuihin aineenvaihduntatuotteiden pitoisuuksiin (taulukko 7). Plasman glukoosipitoisuus pysyi kokeessa vakiona. Rypsirouhetta saaneiden lehmien plasman vapaiden rasvahappojen pitoisuus oli suuntaa antavasti suurempi kuin härkäpapua saaneiden, mutta kaikissa valkuaisruokinnoissa pitoisuus oli merkitsevästi pienempi kuin kontrolliruokinnassa. β -hydroksivoihapon pitoisuus sen sijaan oli suurempi valkuaisruokinnoissa kuin kontrolliruokinnassa ($p < 0,05$). Etikkahapon pitoisuus oli rypsirookinnassa muita ruokintoja suurempi ja ero härkäpapuruokintoihin oli hyvin merkitsevä. Näiden aineenvaihduntatuotteiden päivittäisessä otossa maitorauhaseen ei ruokintojen välisiä eroja ollut (dataa ei esitetty).

Taulukko 7. Valkuaislisän ja pötsisuojatun metioniinin vaikutukset aineenvaihduntatuotteiden pitoisuuksiin valtimoveren plasmassa (mmol/l).

	Käsittely				SEM	Merkitsevyys		
	KON	RR	HR	HRM		KON vs, muut	RR vs, HR+HRM	HR vs, HRM
Glukoosi	3.87	3.83	3.84	3.88	0.100	0.614	0.6509	0.337
Vapaat rasvahapot	0.065	0.060	0.052	0.055	0.0050	0.033	0.097	0.481
β -hydroksivoihappo	0.436	0.519	0.500	0.503	0.0374	0.036	0.599	0.923
Etikkahappo	1.43	1.71	1.36	1.39	0.009	0.561	0.003	0.802

KON = kontrolliruokinta, RR = rypsirouhuruokinta, HR = härkäpapuruuhuruokinta, HRM = härkäpapuruuhuruokinta ja pötsisuojattu metioniini, SEM = keskiarvon keskivirhe

3.4 Maidontuotanto

Valkuaislisä paransi merkitsevästi maitotuotosta (1,2 kg/pv, taulukko 8) ja energiakorjauksessa tuotoksessa ero oli suurempi (1,6 kg/pv). Metioniinilisä ei vaikuttanut maitotuotokseen, ja sitä saaneet lehmät lypsivät numeerisesti vähemmän maitoa. Maidon valkuaispitoisuus kontrolliruokinnassa erosi muista ruokinnoista ($p < 0,01$). Kuitenkin valkuaispitoisuus oli rypsirookinnassa (35,4 g/kg) vain vähän suurempi ja härkäpapuruokinnassa ei lainkaan suurempi (34,8 g/kg) kuin kontrolliruokinnassa (35,0 g/kg). Sen sijaan metioniinilisää saaneiden lehmien maidossa valkuaista oli enemmän (36,6 g/kg) ja ero pelkkää härkäpapuseosrehua saaneiden maitoon oli erittäin merkitsevä. Valkuaislisää saaneiden lehmien valkuaisuotos oli suurempi kuin kontrolliruokinnassa ($p < 0,01$), mutta pötsisuojattu metioniini ei nostanut valkuaisuotosta. Maidon rasva- ja laktoosipitoisuuksissa ei ollut eroja, mutta valkuaislisää saaneiden lehmien rasva- ($p < 0,05$) ja laktoosituotos ($p < 0,10$) olivat kontrolliruokintaan nähden suurempia. Maidon ureapitoisuus oli selvästi suurempi ($p < 0,001$) valkuaisrehuruokinnoissa (33 mg/dl) kuin kontrolliruokinnassa (22 mg/dl), mutta valkuaislähde tai metioniinilisä eivät vaikuttaneet ureapitoisuuksiin.

Maidontuotanto suhteessa syötiin oli sama kaikissa ruokinnoissa. Sen sijaan typen saanti oli 25 % suurempaa valkuaislisää annettaessa, mutta maitoon typpeä erittyi vain 5 % enemmän valkuaisruokinnoissa kuin kontrolliruokinnassa ($p < 0,01$). Tämän vuoksi typen hyväksikäyttö maidontuotantoon oli suurinta kontrolliruokinnassa (30,9 % saannista). Valku-aisruokinnoissa hyväksikäyttö oli vain 26,0 % typen saannista, ja erot niiden kesken olivat pieniä, mutta suuntaa antavasti härkäpapuruokinnoissa tehokkuus oli 0,9 prosenttiyksikköä suurempi kuin rypsi-ruokinnassa. Numeerisesti metioniinilisä tehosti typen hyväksikäyttöä yhtä paljon kuin rypsin vaihtaminen härkäpapuun, mutta metioniinin vaikutus ei ollut tilastollisesti merkitsevä.

Taulukko 8. Valkuaislisän ja pötsisuojatun metioniinin vaikutukset maitotuotokseen ja maidon pitoisuuksiin sekä rehun ja typen hyväksikäyttöön maidontuotantoon.

	Käsittely				SEM	Merkitsevyys		
	KON	RR	HR	HRM		KON vs. muut	RR vs. HR+HRM	HR vs. HRM
Tuotos								
Maitoa, kg/pv ¹	30,7	32	32,2	31,4	1,65	0,031	0,723	0,245
Energiakorjattua maitoa, kg/pv ¹	31,1	32,9	32,7	32,4	1,98	0,010	0,636	0,636
Rasvaa, g/pv ¹	1270	1360	1350	1320	91	0,026	0,524	0,397
Valkuaista, g/pv ²	1080	1130	1120	1140	61	0,009	0,993	0,266
Laktoosia, g/pv ¹	1350	1400	1410	1380	79	0,051	0,835	0,386
Maidon pitoisuudet								
Rasva, g/kg ³	41,0	42,1	41,8	41,7	1,21	0,380	0,759	0,890
Valkuainen, g/kg	35,0	35,4	34,8	36,6	0,69	0,006	0,147	<0,001
Laktoosi, g/kg ²	43,8	43,7	43,8	43,9	0,61	0,944	0,613	0,728
Urea, mg/dl ^{2,4}	521 (22,0)	1050 (32,0)	1120 (33,0)	1150 (33,5)	92 (1,5)	<0,001	0,111	0,615
Rehun hyväksikäyttö maidontuotantoon								
EKM / syöti (kg/kg ka) ²	1,36	1,33	1,35	1,32	0,047	0,163	0,681	0,272
Typen saanti ja jakautuminen, g/pv								
Saanti ¹	545	701	672	672	18,7	<0,001	0,002	0,945
Maitoon ¹	169	177	175	179	9,6	0,009	0,993	0,266
Sontaan	204	231	224	228	11,7	0,004	0,536	0,639
Typen jakautuminen, % saannista								
Maitoon ¹	30,9	25,4	25,9	26,6	1,04	<0,001	0,092	0,254
Sontaan	38,1	33,4	33,5	34,6	1,27	0,003	0,608	0,474

KON = kontrolliruokinta, RR = rypsi-ruokinta, HR = härkäpapuruokinta, HRM = härkäpapuruokinta ja pötsisuojatun metioniini, EKM = energiakorjattu maitotuotos SEM = keskiarvon keskivirhe

¹Annettu KON- ja HR-ruokintojen SEM, RR- ja HRM-ruokintojen SEM saadaan kertomalla annettu arvo luvulla 1,01.

² Kuten alaviitteessä 1, mutta kertoimena 1,02.

³ Kuten alaviitteessä 1, mutta kertoimena 1,03.

⁴Käytetty korottamista toiseen potenssiin tilastollisissa analyysissä, alkuperäiset arvot esitetty suluissa.

3.5 Plasman aminohapot

Valkuaislisä vaikutti merkitsevästi plasman välttämättömien aminohappojen kokonaispitoisuuteen, joka oli suurin rypsirokinnessa ja pienin kontrolliruokinnassa (taulukko 9). Valkuaisruokintojen väliset erot eivät olleet merkitseviä, ja aminohappojen kokonaispitoisuus oli sama kaikissa ruokinnoissa. Yksittäisistä aminohapoista lisääntyivät leusiinin ja valiinin pitoisuudet ($p < 0,01$) ja suuntaa antavasti isoleusiinin pitoisuus. Näiden haaraketjuisten aminohappojen yhteispitoisuus oli suurempi valkuaisruokinnoissa kuin kontrolliruokinnassa ($p < 0,05$), mikä suurimmaksi osaksi selittää eron välttämättömien aminohappojen kokonaispitoisuudessa. Vaikka rypsin ja härkäpavun välisiä merkitseviä eroja plasman aminohappopitoisuuksissa ei ollut, välttämättömien ja ei-välttämättömien aminohappojen suhde oli niissä päinvastainen. Lisäksi numeerisesti pienin metioniinipitoisuus oli härkäpapuruokinnassa ilman metioniinilisää, ja pötsisuojutettu metioniini lisäsi metioniinin pitoisuutta 69 % ($p < 0,001$). Muista rikkipitoisista aminohapoista kystiinin pitoisuus ei poikennut eri ruokinnoissa, mutta metioniini lisäsi kystationiinin ($p < 0,01$) ja tauriinin ($p < 0,10$) pitoisuutta.

Taulukko 9. Valkuaislisän ja pötsisuojutun metioniinin vaikutukset valtimoveren plasman välttämättömien ja rikkiä sisältävien aminohappojen pitoisuuksiin ja aminohappojen kokonaispitoisuuksiin ($\mu\text{mol/l}$).

	Käsittely				SEM	Merkitsevyys		
	KON	RR	HR	HRM		KON	RR	HR
	vs. muut		vs. HR+HRM			vs. HRM		
Arginiini	78,3	79,8	77,8	82,5	6,27	0,690	0,937	0,374
Fenyyialaniini	56,3	57,1	55,6	57,8	2,27	0,816	0,843	0,387
Histidiini	51,5	52,4	55,1	54,2	2,07	0,192	0,253	0,681
Isoleusiini	135	152	142	146	7,4	0,058	0,213	0,557
Leusiini	152	180	172	173	9,8	0,008	0,350	0,933
Lysiini	92,9	98,1	92,4	98,8	4,37	0,421	0,597	0,250
Metioniini	21,2	22,3	18,2	30,8	1,58	0,192	0,266	<0,001
Treoniini	113	118	112	112	6,2	0,784	0,250	0,933
Tryptofaani	35,1	33,9	35,1	34,4	0,84	0,497	0,409	0,553
Valiini	291	334	323	322	17,4	0,009	0,378	0,964
Kystiini	21,6	22,1	21,3	22,5	1,01	0,608	0,816	0,149
Tauriini	35,3	34,7	32,4	35,2	2,31	0,315	0,481	0,063
Kystationiini ¹	0,660 (4,68)	0,669 (4,84)	0,621 (4,38)	0,700 (5,15)	0,0262 (0,310)	0,830	0,639	0,002
Haaraketjuiset ²	578	665	637	641	33,5	0,011	0,313	0,888
Välttämättömät ³	1030	1130	1080	1110	41	0,050	0,467	0,556
Ei-välttämättömät ⁴	1150	1080	1130	1110	38	0,165	0,224	0,680
Yhteensä ⁵	2180	2200	2210	2220	64	0,624	0,848	0,894

KON = kontrolliruokinta, RR = rypsiroheruokinta, HR = härkäpapuruheruokinta,

HRM = härkäpapuruheruokinta ja pötsisuojutettu metioniini, SEM = keskiarvon keskivirhe

¹Käytetty logaritimuunnosta tilastollisessa analyysissä, alkuperäiset arvot esitetty suluiissa

²Isoleusiini, leusiini ja valiini

³Arginiini, fenyyialaniini, histidiini, isoleusiini, leusiini, lysyiini, metioniini, treoniini, tryptofaani ja valiini

⁴Alaniini, asparagiini, asparagiinihappo, glutamiini, glutamiinihappo, glysiini, kysteiini, proliini, seriini ja tyrosiini

⁵Alaviitteissä 3 ja 4 luetellut

Pötsisuojattu metioniini ei vaikuttanut metioniinin valtimo- ja laskimopitoisuuden erotukseen eikä tutkimuksessa ylipäätään havaittu eroja välttämättömien aminohappojen valtimo- ja laskimopitoisuuksien erotuksissa (dataa ei esitetty). Samoin metioniinin eritystehokkuus maitorauhaseen pieneni annettaessa pötsisuojattua metioniinia ($p < 0,05$, taulukko 10). Muiden välttämättömien aminohappojen eritystehokkuuksissa ei merkitseviä eroja ollut (dataa ei esitetty). Aminohappojen otossa maitorauhaseen ei yksittäisissä välttämättömissä aminohapoissa ollut eroja lukuun ottamatta leusiinia, jonka otto lisääntyi lehmien saadessa valkuaislisää ($p < 0,05$, taulukko 10). Yhteenlaskettuna haaraketjuisten aminohappojen iso-leusiinin, leusiinin ja valiinin otto lisääntyi 23 % ($p < 0,05$). Myös yhteenlaskettu välttämättömien aminohappojen otto maitorauhaseen oli 15 % suurempaa ($p < 0,10$), jolloin muiden kuin haaraketjuisten aminohappojen osalta lisäys oli vain 7 %. Otettaessa huomioon myös ei-välttämättömät aminohapot ei ruokintojen välisiä eroja aminohappojen kokonaisotossa maitorauhaseen ollut. Tilastollisesti rypsin vaihtaminen härkäpapuun ei vaikuttanut aminohappojen ottoon maitorauhaseen, mutta numeerisesti kokonaisotto ja yksittäisten välttämättömien aminohappojen otot lisääntyivät lukuun ottamatta lysiiniä (-1,7 %) ja metioniinia (-19,6 %). Pötsisuojattu metioniini ei niin ikään vaikuttanut tilastollisesti aminohappojen ottoon, mutta numeerisesti kokonaisotto ja yksittäisten välttämättömien aminohappojen otot pienenevät paitsi leusiinin (+4,4 %) ja metioniinin (+12,5 %) otto.

Taulukko 10. Valkuaislisän ja pötsisuojatun metioniinin vaikutukset metioniinin eritystehokkuuteen maitorauhaseen (%) ja plasman välttämättömien aminohappojen ottoon maitorauhaseen (mmol/pv).

	Käsittely				SEM	Merkitsevyys		
	KON	RR	HR	HRM		KON vs, muut	RR vs, HR+HRM	HR vs, HRM
Eristystehokkuus (%) maitorauhaseen								
Metioniini	54,5	55,1	52,3	38,5	4,22	0,158	0,037	0,013
Otto maitorauhaseen (mmol/pv)								
Arginiini	517	557	584	500	65,9	0,541	0,772	0,171
Fenyylialaniini	309	318	348	358	28,8	0,214	0,205	0,750
Histidiini	155	180	184	145	23,8	0,455	0,438	0,120
Isoleusiini ¹	2,83 (685)	2,89 (867)	2,94 (1060)	2,90 (799)	0,055 (160,4)	0,116	0,540	0,460
Leusiini	926	1030	1140	1190	78,7	0,022	0,122	0,657
Lysiini ¹	2,89 (797)	2,94 (903)	2,93 (888)	2,90 (829)	0,043 (92,0)	0,285	0,591	0,585
Metioniini ¹	2,26 (184)	2,30 (209)	2,22 (168)	2,27 (189)	0,039 (20,0)	0,913	0,169	0,272
Treoniini	488	531	551	446	56,4	0,669	0,534	0,098
Tryptofaani	24,0	7,12	29,9	13,6	43,377	0,878	0,765	0,773
Valiini	904	1100	1140	911	146,7	0,246	0,575	0,142
Haaraketjuiset ²	2510	3000	3350	2900	316	0,033	0,651	0,148
Välttämättömät ³⁴	4990	5710	6100	5380	540	0,072	0,945	0,143
Ei-välttämättömät ⁵	3280	3180	3290	3180	368	0,818	0,857	0,765
Yhteensä ⁶	8270	8890	9390	8140	912	0,426	0,863	0,140

KON = kontrolliruokinta, RR = rypsirouhuokinta, HR = härkäpapuruohuokinta,

HRM = härkäpapuruohuokinta ja pötsisuojattu metioniini, SEM = keskiarvon keskivirhe

¹Käytetty nelijuurimuunnosta tilastollisessa analyysissä, alkuperäiset arvot esitetty suluissa

²Isoleusiini, leusiini ja valiini

³Poistettu negatiivinen, selvästi poikkeava arvo (härkäpapuruohuokinta ja metioniinilisä) Muiden ruokintojen SEM saadaan kertomalla taulukoitu SEM luvulla 0,946.

⁴Arginiini, fenyylialaniini, histidiini, isoleusiini, leusiini, lysiini, metioniini, treoniini, tryptofaani ja valiini

⁵Alaniini, asparagiini, asparagiinihappo, glutamiini, glutamiinihappo, glysiini, kysteini, proliini, seriini ja tyrosiini

⁶Alaviitteissä 4 ja 5 luetellut

4 Tulosten tarkastelu

4.1 Rehujen koostumus

Tutkimuksessa käytetty säilörehu oli myöhäisellä kasvuasteella korjattua toisen sadon nurmisäilörehua. Sen vuoksi rehun D-arvo jäi tavoiteltua 680–700 g/kg ka pienemmäksi (Jaakkola ym. 2010), minkä takia seosrehuun jouduttiin lisäämään enemmän väkirehua. Säilörehun raakavalkuaispitoisuus oli kuitenkin suuri (Jaakkola ym. 2010). Tämän vuoksi kontrolliruokinnan valkuaispitoisuus oli tasoa, jota joissain lähteissä pidetään lypsykarjan ruokintaan riittävänä, jotta vältettäisiin valkuaisen ylikuokinnasta aiheutuvia typpipäästöjä (Olmos Colmenero ja Broderick 2006, Stojanović ym. 2019). Säilörehun säilöntä oli analyysin perusteella onnistunut. Rehun pH ei kuiva-ainepitoisuuden huomioon ottaen ollut

liian korkea, haihtuvien rasvahappojen pitoisuus oli pieni, sokeria oli jäänyt jäljelle riittävästi ja ammoniumtyypen osuus kokonaistypestä oli pieni (Jaakkola ym. 2010).

Valkuaisrehujen koostumus ei yleensä ottaen poikennut taulukkoarvoista (Luke 2020, Feedipedia 2018, 2020) tai aiemmista vastaavista tutkimuksista (Ramin ym. 2017, Lamminen ym. 2019). Ducin ym. (1999) mukaan härkävavun valkuais- ja tärkkelyspitoisuus vaihtelee paljon, ja kokeessa valkuaispitoisuus oli normaalissa vaihteluvälissä. Kokeessa käytetty härkävapurouhe oli kuorittua, mikä selittää pienemmän NDF-pitoisuuden ja suuremman raakavalkuaispitoisuuden (Ferruzzi ym. 2009) kuin taulukoissa esitetyt keskimääräiset arvot kokonaisille härkävavuille. Toisaalta härkävavun tärkkelyspitoisuus oli selvästi tavanomaista pienempi (Duc ym. 1999, Feedipedia 2018), vaikka kuoriminen lisää solunsisällyshiilihydraattien osuutta (Ferruzzi ym. 2009). Tärkkelyspitoisuus oli silti huomattavasti suurempi kuin Raminin ym. (2017) ja yhtä suuri kuin Lammisen ym. (2019) tutkimuksessa.

Härkävavun aminohappokoostumuksessa vaihtelu on Ducin ym. (1999) mukaan pientä. Sekä rypsin että härkävavun aminohappokoostumus oli lähes samanlainen kuin taulukoissa (Luke 2020, Feedipedia 2018, 2020) ja Lammisen ym. (2019) tutkimuksessa. Härkävavun metioniinipitoisuus oli suurempi kuin Lammisella ym. (2019), mutta pitoisuus oli aivan sama kuin Ducilla ym. (1999).

4.2 Ravintoaineiden saanti ja sulavuus

Valkuaispitoisempi ruokinta lisää tyypillisesti kuiva-aineen syöntiä, mikä johtuu tehokkaammasta kuidun sulatuksesta pötsissä (Huhtanen ym. 2011), ja tässäkin tutkimuksessa valkuaisrehut lisäsivät syöntiä ja paransivat kuidun kokonaissulavuutta. Vaikka kuiva-aineen syönti väheni härkävavun korvatessa rypsin, numeerisesti ero oli huomattavasti pienempi kuin Puhakan ym. (2016) tutkimuksessa, jossa syönti väheni selvästi erityisesti annettaessa valkuaispitoisempaa rehua. Tässä tutkimuksessa sekä kuiva-aineen syönti että ravintoaineiden saannit olivat Puhakan ym. (2016) tutkimusta suurempia ja rehuannoksen raakavalkuaispitoisuus vastasi heidän valkuaispitoisempaa ruokintaansa. Paitsi kuidun sulavuus, voi lisääntyntä syöntiä selittää myös kudosten tasapainoisempi energian ja aminohappojen saanti ja siitä johtuva suurempi tuotos (Huhtanen ym. 2011). Puhakka ym. (2016) arvelevat rypsiaruokinnan suuremman kuiva-ainesyönnin johtuvan osittain juuri aineenvaihdunnan tehostumisesta, koska rypsin aminohappokoostumus on härkävavua tasapainoisempi. Paahtaminen on todettu tehokkaaksi tavaksi pienentää härkävavun valkuaisen

pötsihajoavuutta (Goelema ym. 1998, Yu 2005), ja se voi siten selittää, miksi rypsi- ja härkäpapuruokintojen välinen ero kuiva-aineen syönnissä oli Puhakan ym. (2016) tutkimusta pienempi. Raminin ym. (2017) tutkimuksessa härkäpavun paahtaminen ei vaikuttanut kuiva-aineen syöntiin lainkaan, mutta toisaalta tutkimuksessa syönti oli sama myös kontrolli- ja rypsiruoikinnassa. Myöskään Ingalls ja McKirdy (1974) ja Lamminen ym. (2019) eivät havainneet eroa kuiva-aineen syönnissä raa'an härkäpavun korvatessa rypsin ruokinnassa. Verrattaessa härkäpavun ja rypsin välistä eroa tässä tutkimuksessa aiempiin tutkimuksiin on vaikea sanoa, kuinka suuri paahtamisen mahdollinen positiivinen vaikutus kuiva-aineen syöntiin oli, koska erot syönnissä ovat aiemmissä tutkimuksissa olleet ristiriitaisia.

Paahtaminen ei myöskään poista metioniinin puutetta. Valkuaisen hajoaminen pötsissä ei tosin ole tasaista eikä ohitusvalkuaisen aminohappokoostumus vastaa alkuperäistä koostumusta (Erasmus ym. 1994, Cozzi ym. 1995). Härkäpavun ohitusvalkuaisen metioniinipitoisuus ei kuitenkaan poikkea alkuperäisestä (Benchaar ym. 1994, Sanz Sampelayo ym. 1999). Benchaarin ym. (1994) mukaan ekstruusio vähensi valkuaisen hajoamista pötsissä, mutta ei vaikuttanut merkittävästi rikkihappojen osuuteen ohitusvalkuaisessa. Kuitenkin rikkihappojen osuus ohitusvalkuaisesta oli suurempi ekstrudoituja kuin raakoja härkäpapuja ruokittaessa, koska tällöin niiden osuus pötsissä muodostuneesta mikrobivalkuaisesta oli suurempi (Benchaar ym. 1994). Mikrobivalkuaisen aminohappokoostumuksen oletetaan yleensä olevan vakio, mutta ruokinta voi vaikuttaa siihen (Korhonen ym. 2002, Boguhn ym. 2006). Kuitenkin Korhosen ym. (2002a) mukaan ohran tai rypsin lisääminen säilörehuruokintaan vaikuttaa pötsimikrobien aminohappokoostumukseen merkityksellömän vähän. Samoin Boguhn ym. (2006) havaitsivat yli kymmentä ruokintaa verratessaan suurimpien erojen mikrobivalkuaisen rikkihappojen osuudessa olevan vain puolet Benchaarin ym. (1994) havaitsemasta 50 % lisäyksestä mikrobivalkuaisen rikkihappojen osuuteen annettaessa lehmille raakojen härkäpapujen sijaan ekstrudoituja. Kuumennuskäsittelyn ei voida olettaa lisänneen ohitusvalkuaisesta imeytyvän valkuaisen metioniinipitoisuutta niin paljoa, että se merkittävästi lisäisi imeytyvän metioniinin määrää. Tämä näkyy myös härkäpapua saaneiden lehmien plasman pienempänä metioniinipitoisuutena verrattuna rypsiä saaneisiin. Ainakaan metioniinin saanti ei tutkimuksessa ollut syöntiä rajoittava tekijä, koska metioniinilisä ei vaikuttanut siihen lainkaan toisin kuin joissain muissa tutkimuksissa, joissa annettiin pötsisuojuuttua metioniinia (Madsen ym. 2005, Lee ym. 2012).

Runsaampi valkuaisruokinta paransi ravintoaineiden sulavuutta, mikä on todettu useissa tutkimuksissa (Huhtanen ym. 2011). Härkäpapuruokinnassa kuiva-aineen sulavuus oli parempi kuin rypsirookinnassa kuten aiemmissakin tutkimuksissa (Puhakka ym. 2016, Lammisen ym. 2019). Ero oli kuitenkin vain suuntaa antava eikä orgaanisen aineen sulavuudessa merkitsevä. Valkuaisen sulavuudessa ei ollut eroa, toisin kuin Puhakan ym. (2016) ja Lammisen ym. (2019) tutkimuksissa, mutta rehutaulukoiden (Luke 2020) mukaan rypsirouhe ja härkäpapu eroavat valkuaisen sulavuudessa vain vähän huolimatta huomattavasta erosta orgaanisen aineen sulavuudessa.

Kuidun sulavuus tutkimuksessa oli erittäin huono verrattuna Puhakan ym. (2016) ja Lammisen ym. (2019) tutkimuksiin. Puhakan ym. (2016) tutkimuksessa härkäpapuväkirehua syöneet lehmät sulattivat kuitua heikommin ruokinnan muututtua muita ruokintoja väkirehuvaltaisemmaksi säilörehun syönnin vähennyttyä. Osittain kuidun huonoa sulavuutta voitässäkkin tutkimuksessa selittää melko korkea väkirehupitoisuus (Hoover 1986), mutta ero väkirehupitoisuudessa ei aiempiin tutkimuksiin verrattuna ollut suuri. Tämän tutkimuksen tulos taas on yhteneväinen Lammisen ym. (2019) kanssa, eli tutkimuksessa ei ollut kuidun sulavuudessa valkuaisruokintojen välisiä eroja, mitä voi selittää ruokinnan väkirehuosuiden pysyminen vakiona käytettäessä seosrehuruokintaa. Kuidun huonoa sulavuutta selittää säilörehun huono sulavuus, sillä ruokittaessa samanlaista toisen sadon säilörehua (D-arvo 656 g/kg ka) on kuidun sulavuus ollut vastaava (Laukkanen 2017). Samoin Udénin (1984) tutkimuksessa syötettäessä puolet myöhään korjattua toisen sadon säilörehua ja puolet väkirehua olivat kuidun ja orgaanisen aineen sulavuudet samaa luokkaa kuin tässä tutkimuksessa.

Tärkkelyksen sulavuus oli kokeessa täydellistä kaikissa ruokinnoissa. Moharreryn ym. (2014) meta-analyysin mukaan vehnän ja maissin tärkkelyksen sulavuus on täydellistä, mutta ohran tärkkelys sulaa vain 96 ja härkäpavun 95 prosenttisesti, mikä vastaa Lammisen ym. (2019) ruokinnan sulavuutta. Härkäpavun tärkkelyksen sulavuus riippuu viljoja enemmän siitä, kuinka hienoksi se on jauhettu käsittelyssä ja myös paahtaminen voi parantaa härkäpavun sulavuutta (Larsen ym. 2009). Samoin kuin valkuaisen osalta, vaikuttaa paahtodon voimakkuus tärkkelyksen pötsihajoavuuteen (Yu ym. 1998b, Yu 2005), mutta suuri osa lisääntyneestä ohutsuoleen virtaavasta tärkkelyksestä voi sulaa vasta paksusuoleessa ja osa jäädä täysin sulamatta (Larsen ym. 2009). Koska tärkkelyksen sulavuus tutkimuksessa oli suurta, ei teollinen käsittely ole ollut liian voimakasta ja voi osaltaan selittää tärkkelyksen yllättävän hyvää sulavuutta. Puhakka ym. (2016) nosti esiin härkäpavun tärkkelyksen

ohutsuolisulatuksen merkityksen plasman rypsirookintaa suuremman glukoosipitoisuuden perusteella. Ohutsuoilesta imeytyvän glukoosin lisääntyminen härkäpapua annettaessa on mahdollista myös tässä tutkimuksessa, koska valtimoplasman glukoosipitoisuus ei välttämättä lisäännä glukoosin imeytymisen lisääntyessä, sillä porttilaskimoa edeltävät sisäelimet suosivat lisääntyneen glukoosin käyttöä (Nocek ja Tamminga 1991, Lemosquet ym. 2004).

4.3 Pötsikäyminen

Pötsin haihtuvien rasvahappojen pitoisuus oli pienempi kuin Puhakan ym. (2014) ja Lamminen ym. (2019) tutkimuksissa. Merkittävä ero niihin on etikkahapon pieni ja propionihapon suuri osuus haihtuvista rasvahapoista. Tämä on epätyypillistä suomalaisille nurmisäilörehupohjaisille ruokinnoille (Huhtanen 1998), myös annettaessa tässäkin tutkimuksessa käytettyjä väkirehujä noin 45 % kuiva-aineesta (esim. Murphy ym. 1993, Kokkonen ym. 2000). Toisaalta tulos ei ole aivan poikkeuksellinen, vaan nurmisäilörehuruokinnoissa on aiemminkin mitattu samoja etikka- ja voihiapon pitoisuuksia suhteessa propionihappoon (Jatkauskas ja Vrotniakienė 2007, Bayat ym. 2017). Runsaasti huonosti sulavaa karkearehua sisältävä ruokinta lisää etikkahapon ja vähentää voihiapon osuutta (Rinne ym. 1997, McDonald ym. 2011, s. 177–178). Väkirehun lisääminen pienentää etikkahapon ja lisää propionihapon osuutta, mutta vaikutus on erityisen suuri hyvin väkirehupitoisissa ruokinnoissa (väkirehun osuus vähintään 60 % kuiva-aineesta, McDonald ym. 2011, s. 177–178) ja karkearehun ollessa hyvin sulavaa (McAllan ym. 1994). Vaikka tätä on havaittu myös nurmisäilörehuruokinnoissa (Bayat ym. 2017), usein propionihapon sijaan on lisääntynyt voihiapon osuus (Jaakkola & Huhtanen 1993, Huhtanen 1998). Periaatteessa väkirehun koostumus voi vaikuttaa haihtuvien rasvahappojen suhteisiin, sillä esimerkiksi melassileike lisää propionihapon ja pienentää voihiapon osuutta verrattuna ohraan (Murphy ym. 1993). Väkirehustus ei silti olennaisesti poikennut vertailtavista tutkimuksista. Olennaisena erona on siten pidettävä säilörehun hyvin heikkoa sulavuutta. Vaikka propionihapon osuus oli hyvin suuri verrattuna aiempiin tuloksiin (Jaakkola & Huhtanen 1993, Kokkonen ym. 2000, Lamminen ym. 2019), haihtuvien rasvahappojen kokonaispitoisuus pötsissä oli niihin verrattuna pienempi. Rinteen ym. (1997) mukaan VFA:n kokonaispitoisuus pötsissä pienenee syötettäessä vanhempaa eli kuitupitoisempaa rehua, mutta samalla etikkahapon osuus suurenee. Väkirehun lisääminen taas lisää haihtuvien rasvahappojen pitoisuutta pötsissä ja pienentää etikkahapon ja lisää voihiapon osuutta (Jaakkola ja Huhtanen 1993). Pöt-

sin pieni haihtuvien rasvahappojen pitoisuus tutkimuksessa yhdistettynä pieneen etikkahapon, suureen propionihapon ja keskinkertaiseen voihaponpitoisuuteen sekä kuidun huonoon kokonaissulavuuteen viittaa vanhan, toisen sadon säilörehun sulaneen pötsissä heikosti ja väkirehun olleen tärkeä pötsikäymisen lähtöaine.

Vaikka valkuaispitoisempi ruokinta lisäsi ravintoaineiden sulatusta, ei tämä vaikuttanut pötsin happamuuteen tai pääasiallisten käymistuotteiden osuuksiin pötsinesteessä, mikä vastaa aiempaa tietoa asiasta (Erdman ym. 1986, Reynal & Broderick 2005, Puhakka ym. 2014). Pidempien ja haaraketjuisten haihtuvien rasvahappojen pitoisuuden lisääntyminen valkuaisruokinnoissa oli luontevaa, sillä niitä syntyy haaraketjuisten aminohappojen hajotustuotteina (McDonald ym. 2011, s. 176). Puhakka ym. (2016) arvelivat plasman kohonneiden etikkahappopitoisuuksien perusteella etikkahapon osuuden pötsikäymisessä olevan härkäpapuruokinnassa rypsirookintaa suurempi. Lamminen ym. (2019) havaitsivat päinvastoin härkäpavun pienentävän etikkahapon osuutta pötsikäymisessä verrattuna rypsiin. Jälkimmäistä tulosta tukisi myös tässä tutkimuksessa havaittu plasman suurempi etikkahapon pitoisuus rypsirookinnassa. Rypsirookinnassa oli muita vähemmän tärkkelystä ja enemmän kuitua, mikä lisää etikkahapon osuutta pötsikäymisessä (Huhtanen 1998, Lamminen ym. 2019). Toisaalta rypsirookinnan ja muiden ruokintojen välinen ero plasman etikkahappopitoisuudessa oli huomattavan suuri ottaen huomioon, ettei pötsin etikkahappopitoisuudessa havaittu lainkaan eroja.

Ammoniumtyypen pitoisuus pötsissä oli suurempi valkuaisruokinnoissa, kun tarjolla oli enemmän hajoavaa valkuaista kuin kontrolliruokinnassa. Riittäväksi ammoniumtyypen pitoisuudeksi mikrobivalkuaiustuotannon maksimoimiseksi on *in vitro* määritetty 50 mg/l (eli 3,57 mmol/l) (Satter & Slyter 1974), mutta *in vivo* -tutkimuksissa on saatu huomattavasti korkeampia arvoja (8,5–15,9 mg/dl (6,07–11,4 mmol/l), Reynal & Broderick 2005). Kontrolliruokinnassa ammoniumtyypen pitoisuus ylitti Satterin ja Slyterin (1974) esittämän riittävän tason vain puolessa mittauksista. Toisaalta he esittävät jo 20 mg/l (1,43 mmol/l) saatavan riittää mikrobivalkuaiustuotannon maksimoimiseen, ja Schaefer ym. (1980) mukaan bakteerit saavuttavat kasvunopeudestaan 95 % jo 1 mmol/l pitoisuudessa. Myös maidon ureapitoisuuden perusteella kaikissa ruokinnoissa oli riittävästi typeä mikrobivalkuaiustuotantoon (Huhtanen 2010). Pötsimikrobien tyypentarve on suoraan suhteessa pötsikäymiseen (McDonald ym. 2011, s. 181), joten lisääntynyt kuiva-aineen syönti valkuaisruokinnoissa on oletettavasti lisännyt myös mikrobivalkuaisen tuotantoa.

4.4 Maidontuotanto

Tutkimuksessa valkuaisruokinta lisäsi maitotuotosta riippumatta annetusta valkuaisesta, ja siinä näkyi lisääntyneen kuiva-aineen syönnin ja maitotuotoksen välinen tunnettu yhteys (Hristov ym. 2004). Erityisesti maitotuotoksia tulkittaessa on silti huomioitava keskiarvojen suuri keskivirhe, minkä vuoksi johtopäätöksiä on syytä tehdä varoen. Kontrolli- ja rypsirouhueroituksen välinen ero kuiva-aineen syönnissä oli Huhtasen ym. (2011) mallin mukainen, vaikka tuotoksen lisäys oli vain puolet mallin ennustamasta. Pieniä tuotosvasteita valkuaislisälle on havaittu lukuisissa tutkimuksissa, minkä on selitetty johtuvan muun muassa hyvälaatuisesta säilörehusta (Puhakka ym. 2016) ja matalasta tuotostasosta (Ramin ym. 2017), vaikka rypsirouhe on antanut hyvän tuotosvasteen myös maitotuotosten ollessa varsin pieniä (Vanhatalo ym. 2004). Broderickin (2003) mukaan valkuaispitoisuuden nosto lisäsi kuiva-aineen syöntiä, kun taas Olmos Colmeneron ja Broderickin (2006) tutkimuksessa syönti pysyi samana. Molempien tutkimusten mukaan maitotuotos nousi annettaessa enemmän valkuaista, mutta ruokinnan valkuaispitoisuuden nosto yli 16–17 prosenttiin ei enää lisännyt tuotosta (Broderick 2003) tai jopa vähensi sitä suuntaa antavasti (Olmos Colmenero ja Broderick 2006). Kuitenkin yleisesti suurin tuotos saavutetaan vasta, kun ruokinnassa on raakavalkuaista yli 20 %, mutta vaikutus on käyräviivainen (Huhtanen ja Shingfield 2005, Ipharraguerre ja Clark 2005b). Se selittää keskinkertaista tuotosvastetta tässä tutkimuksessa.

Härkäpavun antaminen rypsin sijaan ei vähentänyt maitotuotosta toisin kuin tuoreissa pohjoismaisissa tutkimuksissa (Puhakka ym. 2016, Ramin ym. 2017, Lamminen ym. 2019). Puhakan ym. (2016) tutkimuksessa voimakkaampi valkuaisruokinta antoi vasteen vain rypsin ollessa valkuaisrehuna, sillä härkäpavun määrää lisättäessä tuotos ei lisääntynyt lainkaan. Käytettäessä valkuaisrehua, jonka aminohappokoostumus on parempi, riittää huipputuotoksen saavuttamiseen vähäisempi valkuaisrehun käyttö, mutta eri valkuaisrehujen tuotosvasteisiin vaikuttaa myös muu ruokinta (Ipharraguerre ja Clark 2005b). Useissa aiemmissa tutkimuksissa härkäpavun käyttö ei ole vähentänyt maitotuotosta (Ingalls ja McKirdy 1974, Ingalls ym. 1980, Tufarelli ym. 2012), mutta niissä karkearehuna ei ole ollut nurmisäilörehu tai vertailtavana valkuaisrehuna on ollut soija. Koska oleellista on imeytyvien aminohappojen määrä, valkuaisen pötsihajoamisen pienentämisen pitäisi vaikuttaa maitotuotokseen. Siitä huolimatta härkäpavun kuumennuskäsittely ei ole vaikuttanut syöntiin, maitotuotokseen tai maidon pitoisuuksiin (Ramin ym. 2017, Mendowski ym. 2020). Raminin ym. (2017) tutkimuksessa syynä voi olla liian mieto paahtaminen (Yu ym.

1998a, Vaga ym. 2017), mutta Mendowskin ym. (2020) tutkimuksessa härkäpavun ekstruusio ei vaikuttanut tuotokseen huolimatta valkuaisen pötsihajoavuuden vähenemisestä ja aminohappojen saannin lisääntymisestä. Heidän aiemmassa tutkimuksessaan maitotuotos lisääntyi suuntaa antavasti, kun raan härkäpavun sijaan käytettiin ekstrudoitua (Mendowski ym. 2019). Vaikka molemmissa tutkimuksissa plasman aminohappopitoisuudet lisääntyivät käytettäessä ekstruusiota, heikkeni valkuaisen ohutsuolisulavuus (Mendowski ym. 2019, 2020). Siksi ohitusvalkuaisen lisääntyminen ei näkynyt täysimääräisesti lisääntyneenä aminohappojen imeytymisenä, ja ekstruusion vaikutus maitotuotokseen jäi heikoksi.

Ainakin yhdessä tutkimuksessa herneen ekstruusio on lisännyt maitotuotosta verrattuna raakoihin tai ekspandoituihin herneisiin (Masoeron ym. 2006), mutta toisessa tutkimuksessa eroa ei havaittu (Petit ym. 2017). Heidän mukaansa ekstruusio ei pienentänyt valkuaisen pötsihajoavuutta, mutta sen sijaan lisäsi tärkkelyksen hajoavuutta (Petit ym. 2017). Tämä on ristiriidassa useiden tutkimusten (Benchaar ym. 1994, Goelema ym. 1999, Masoero ym. 2005) kanssa, joissa härkäpavun tai herneen ekstruusio tai ekspandointi on hidastanut valkuaisen hajoamista pötsissä. Vaikka Petit ym. (1997) eivät havainneet eroa maitotuotoksessa, ekstrudoitujen herneiden käyttäminen lisäsi maidon valkuaispitoisuutta. Ipharraguerre ja Clark (2005a) esittävät valkuaislähteen vaikutuksen olevan pieni ruokinnan raakavalkuaispitoisuuden ollessa joko pieni (alle 16 %) tai suuri (yli 18 %) ja vaikutuksen olevan merkittävä näiden välissä. Tämä sen vuoksi, että suuri raakavalkuaispitoisuus tarjoaa joka tapauksessa riittävästi valkuaista maidontuotantoon ja energian saanti voi rajoittaa sen sijaan. Toisaalta Mendowskin ym. (2020) tutkimuksessa ohitusvalkuaisen lisääminen ei vaikuttanut, vaikka raakavalkuaispitoisuus oli otollinen (noin 17 %) ja Puhakan ym. (2016) tutkimuksessa suuri raakavalkuaispitoisuus korosti rypsin ja härkäpavun välistä eroa. Tämänkertaisessa tutkimuksessa lehmät lihoivat tutkimuksen aikana ja plasman aineenvaihduntatuotteiden perusteella lehmien energiatase oli positiivinen (Adewuyi ym. 2005). Mahdollisesta ruokinnan tärkkelyksestä ja sen sulatuksesta johtuvaa etua energian saantiin härkäpapuruoikinnassa on vaikea arvioida. Tehostunut energian saanti voisi kuitenkin tukea härkäpapuruoikinnan odotettua suurempaa maitotuotosta rypsiin verrattuna, erityisesti ottaen huomioon näiden välisen eron kuiva-aineen syönnissä (Nocek ja Tamminga 1991). Vaikka eri valkuaisrehujen vaikutukset maidontuotantoon ovat tutkimuksissa osin ristiriitaisia, tämän tutkimuksen perusteella paahdettu härkäpapu voi olla hypoteesin vastaisesti rypsin veroinen valkuaisrehu. Tätä tukee se, että paahtaminen lisää

ohutsuolessa käyttökelpoisen valkuaisen määrää (Yu 2005, Vaga ym. 2017), vaikka toisaalta todellinen lisäys aminohappojen imeytymiseen voi olla huomattavasti potentiaalista lisäystä pienempi (Mendowski ym. 2019, 2020).

Metioniinilisä ei vaikuttanut kuiva-aineen syöntiin tai maitotuotokseen, ja numeerisesti tuotos peräti pieneni. Zanton ym. (2014) havaitsivat meta-analyyssissään, että Smartaminen metioniinia käytettäessä maitotuotos on keskimäärin vähentynyt, vaikka vähentyminen on ollut pientä eikä tilastollisesti merkitsevää. Ylipäättään pötsisuojatun metioniinin vaikutus maitotuotokseen on tutkimusten välillä hyvin vaihtelevaa, eikä selviä syitä esimerkiksi käytettyjen metioniinituotteiden erilaisille vaikutuksilla ole selvinnyt (Patton 2010, Zanton ym. 2014). Myöskään pötsisuojatun metioniinin vaikutustapa vain ruokinnan metioniinivajauksen täydentäjänä ei ole selvä, sillä maitotuotos on keskimäärin lisääntynyt vain, mikäli perusruokinnassa ei ole ollut puutetta metioniinista (Patton 2010). Toisaalta yhden pötsisuojatun aminohapon lisääminen voi johtaa aminohappojen epätasapainoon, mikä on vaikuttanut negatiivisesti maidontuotantoon (Robinson ym. 2010). Tutkimuksissa metioniini on silti yleensä tuottanut positiivisen maitotuotosvasteen, kun lysiinin vaste on ollut keskimäärin hieman negatiivinen (Robinson 2010). Erityisesti metioniini on liiallisesti saatuna myrkyllistä (Baker 2006), ja melko pieni metioniinin ylikuormitus (15 g/pv infusoiduna juokutusmahaan, mikä vastasi noin 150 % tarpeesta) on pienentänyt syöntiä ja maitotuotosta (Robinson ym. 2000). Tässä tutkimuksessa pötsisuojatun metioniinin käyttö nosti metioniinin saantia vain yhtä suureksi kuin rypsi-ruokinnassa, vaikka plasman selvästi suuremman metioniinipitoisuuden perusteella sen imeytyminen ohutsuoletta on voinut olla suurempaa. Huomattava lisäys plasman metioniinipitoisuudessa on silti tavallista, eikä se ole heikentänyt maitotuotosta (Guinard ja Rulquin 1995, Lee ym. 2012). Vaikka metioniinia ei olisi liikaa, on tärkeää, että muitakin aminohappoja on riittävästi. Metioniini oli lisännyt johdonmukaisesti maitovalkuaisen tuotosta vain tutkimuksissa, joissa imeytyvistä aminohapoista arvioitiin lysiiniä olevan vähintään 65 g/kg (Rulquin ym. 1993). Härkäpavun lysiinipitoisuus voi pienentyä pötsissä (Sanz Sampelayo ym. 1999) tai pysyä muuttumattomana (Benchaar ym. 1994), mutta syötetyssä härkäpapuruuheessa lysiinin osuus aminohapoista oli kuitenkin riittävä 64 g/kg. Koska lysiini tai metioniini ei aiempien tutkimusten perusteella ollut kontrolliruokinnassa rajoittava tekijä (Varvikko ym. 1999, Vanhatalo ym. 1999), härkäpapuruokinnassakaan lysiinin puutteen ei pitäisi rajoittaa pötsisuojatun metioniinin hyväksikäyttöä.

Huolimatta vaihtelevasta vaikutuksesta maitotuotokseen on pötsisuojatun metioniinin vaikutus valkuaispitoisuuteen ja -tuotokseen ollut useimmiten positiivinen (Patton 2010, Zanton ym. 2014). Valkuaispitoisuudessa metioniinin vaikutus myös näkyy heti käytön alettua, vaikka maitomäärissä ero havaittaisiin vasta yli kuukauden käytön jälkeen (St-Pierre ja Sylvester 2005). Metioniinin käytöstä härkävun aminohappokoostumuksen täydentäjänä ei löytynyt aiempaa tutkimusta. Herneen lisänä on tutkittu pötsisuojatun metioniinin ja lysiinin antamista (Pereira ym. 2017), koska aiemmassa tutkimuksessa soijan vaihtaminen herneeseen oli pienentänyt maitotuotosta suoraviivaisesti (Albrecht 2012). Kuitenkaan uudessa tutkimuksessa maitotuotos ei herneruokinnassa ollut soijaruokintaa huonompi eikä aminohappotäydennys vaikuttanut maitotuotokseen lukuun ottamatta maidon valkuaispitoisuuden lisääntymistä (Pereiran ym. 2017). Samoin tässä tutkimuksessa härkävun tuotosvaste oli hyvä ja metioniinilisä vaikutti maidon valkuaispitoisuuteen toisin kuin rasvapitoisuuteen. Siten metioniini saattoi vaikuttaa positiivisesti maitovalkuaisen tuotantoon, vaikkei sitä valkuaisuotoksessa suoraan havaittukaan. Pötsisuojattua metioniinia annettaessa maidon valkuaispitoisuus on keskimäärin lisääntynyt 0,7 g/kg ja suurimmillaan lisäys on ollut 3,5 g/kg (Patton 2010), minkä perusteella tässä tutkimuksessa lisäys on ollut merkittävä. Metioniinin on todettu eri tutkimuksissa vaikuttavan myös maitorasvan tuotantoon (Patton 2010), ja tämä vaikutus on havaittu, vaikka valkuaisuotokset ei olisi muuttunut (Overton ym. 1996, Varvikko ym. 1999). Toisaalta tutkimuksissa pötsisuojatun metioniinin vaikutus maidon rasvapitoisuuteen on ollut pienimmillään $-3,0$ g/kg ja suurimmillaan 4,1 g/kg ja keskimäärin vaikutus on ollut olematon (Patton 2010), joten vaikutuksen puuttumista ei voi pitää poikkeuksellisena.

Rehun ja typen hyväksikäyttö maidontuotantoon oli kokeessa aiempia tutkimuksia pienempi (Puhakka ym. 2014, Puhakka ym. 2016, Lamminen ym. 2019), mikä rehun hyväksikäytön osalta voi johtua säilörehun huonosta sulavuudesta. Raakavalkuaisen saannin lisääntyessä sekä sontaan että maitoon erittyvän typen määrä lisääntyi, mutta suhteellisesti molemmat vähenivät, mikä johtuu lisääntyneestä aminohappojen hajotuksesta elimistössä (Hanigan ym. 2004). Valkuaisruokinnoissa valkuaisuotokset olivat yhtä suuria, mutta annettaessa härkävun lehmät ylsivät yhtä hyvään tuotokseen kuin annettaessa rypsiä, vaikka ne söivät vähemmän, ja näin ollen typen hyväksikäyttö maidontuotantoon oli härkävunruokinnassa parempi. Tämä poikkeaa aiemmista tutkimuksista, joissa härkävun korvatesa rypsin pienempi osa tyydestä erittyi maitoon ja sontaan ja suurempi virtsaan (Puhakka ym. 2016, Lamminen ym. 2019). Tämän perusteella paahdettu härkävun olisi vä-

hintään rypsin veroinen valkuaisrehu. Vastoin hypoteesia pötsisuojatun metioniinin antaminen ei parantanut typen hyväksikäyttöä, koska sen vaikutus jäi joka suhteessa pieneksi. Vaikutuksen pienuutta voi selittää pelkän härkäpavun oletettua parempi tuotosvaste. Yleisesti aiempia tutkimuksia heikompi typen hyväksikäyttö voi pienentää ruokintojen välisiä eroja, minkä vuoksi rypsi- ja härkäpapuruokintojen erot eivät välttämättä tulleet täysin esiin tässä tutkimuksessa.

4.5 Plasman aminohappopitoisuudet

Vaikka useimpien välttämättömien aminohappojen pitoisuudet olivat numeerisesti suuremmat rypsiä kuin härkäpapua saaneiden lehmien valtimoplasmassa, ei aminohappopitoisuuksissa ollut lainkaan merkitseviä eroja. Tämä on vastoin aiempia tutkimuksia, joissa useimpien tai kaikkien aminohappojen pitoisuudet ovat olleet suuremmat annettaessa rypsiä kuin härkäpapua (Puhakka ym. 2016, Lamminen ym. 2019). Sama on havaittu laajemmin verrattaessa rypsiä muihin valkuaisrehuihin (Martineau ym. 2014). Tulos käy yksiin sen kanssa, ettei tuotoksissa ollut ero, toisin kuin mainituissa aiemmissä tutkimuksissa. Voidaan kuitenkin huomioida välttämättömien ja ei-välttämättömien aminohappojen suhteen kääntyminen, mikä voisi johtua härkäpapuruokinnan suuremmasta glukoosin saannista (Lemosquet ym. 2004). Lisääntynyt glukoosin saanti säästäisi ei-välttämättömiä aminohappoja glukoneogeenisistä, mutta ei välttämättömiä aminohappoja rypsi-ruokintaa tehokkaammasta maitovalkuaisen tuotannosta suhteessa valkuaisen saantiin (Lemosquet ym. 2004). Vastaavasti verrattaessa rypsi- ja härkäpapuruokintoja kontrolliin, nähdään ero sekä syönnissä, tuotoksessa että plasman aminohappopitoisuuksissa. Yksittäisistä aminohapoista merkitseviä eroja oli vain haaraketjuisissa aminohapoissa, jotka herkimmin näyttävät erot valkuaisen imeytymisessä, koska niitä ei merkittävästi käytetä maksassa ennen valtimovereen päätymistä (Hanigan ym. 2004). Aiemmissä tutkimuksissa myös muiden välttämättömien aminohappojen pitoisuus plasmassa on noussut ruokinnan valkuaispitoisuuden mukana (esim. Hanigan ym. 2004, Gidlund ym. 2015, Puhakka ym. 2016), mutta tutkimusten kesken vaihtelee, minkä aminohappojen pitoisuudet lisääntyvät. Yleensä ottaen kaseiini-infuusiotutkimuksissa haaraketjuisten aminohappojen ja fenyylialaniinin pitoisuus on lisääntynyt suoraviivaisesti ja muiden välttämättömien aminohappojen käyräviivaisesti aminohappojen saannin lisääntyessä (Martineau ym. 2019). Samaten haaraketjuisten aminohappojen otto maitorauhaseen lisääntyi muiden välttämättömien aminohappojen ottoa enemmän lehmien saadessa valkuaislisää, mikä johtuu niiden ja lysiinin erilaisesta aineenvaihdunnasta verrattuna muihin aminohappoihin (Raggio ym. 2004). Niiden

otto maitorauhaseen lisääntyy enemmän kuin maitovalkuaisen tuotanto, sillä niitä hajotetaan maitorauhasessa, kun muiden aminohappojen hajotusta tapahtuu erityisesti maksassa (Raggio ym. 2004). Plasman aminohappopitoisuudet tukevat siis maitotuotoksen lisääntymistä yhtä paljon annettaessa kumpaa valkuaislisää tahansa.

Pötsisuojattu metioniini lisäsi merkittävästi metioniinin pitoisuutta valtimoplasmassa, mikä kertoo saannin olleen tarvetta suurempaa (Reis ym. 1973). Metioniinin aineenvaihduntatuotteista kystationiinin ja tauriinin pitoisuudet lisääntyivät, mutta kystiinin pitoisuus ei. Tämä voi johtua siitä, että ylimääräisen kystiinin hajottaminen on ylimääräistä metioniinia tehokkaampaa (Reis ym. 1973, Guinard ja Rulquin 1995). Se, ettei metioniinilisä vaikuttanut muiden välttämättömien aminohappojen pitoisuuteen plasmassa, on johdonmukaista sen kanssa, ettei se vaikuttanut syöntiin eli ravintoaineiden saantiin eikä toisaalta lisännyt tuotosta eli aminohappojen kulutusta. Pötsisuojattu tai juoksutusmahaan infusoitu metioniini on joissain tapauksissa pienentänyt muiden välttämättömien aminohappojen pitoisuutta plasmassa (Reis ym. 1973, Guinard & Rulquin 1995, Overton ym. 1996) mikä on odotuksen mukaista, jos metioniini on rajoittavin aminohappo (Schwab ym. 1976). Kuitenkin usein ainoastaan metioniinin pitoisuus plasmassa on lisääntynyt (Papas ym. 1984, Donkin ym. 1989, Kröber ym. 2000), mikä voi johtua siitä, ettei aminohappolisä vaikuttanut sanottavasti tuotokseen. Toisissa tutkimuksissa pötsisuojatun lysiinin ja metioniinin käyttö on lisännyt tuotosta ilman vaikutusta muiden aminohappojen pitoisuuteen plasmassa (Rogers ym. 1987, Madsen ym. 2005, Lee ym. 2012), mutta pötsisuojatun metioniinin vaikutus on voinut ainakin osittain tapahtua lisääntyneen kuiva-aineen syönnin kautta, jolloin muidenkin aminohappojen saanti lisääntyisi (Lee ym. 2012). Vastaavasti muiden aminohappojen plasmapitoisuuden pienentyminen ei ole aina ollut yhteydessä lisääntyneeseen tuotokseen (Berthiaume ym. 2001). Vaikka rypsin ja härkäpavun välinen ero plasman metioniinipitoisuudessa ei ollut läheskään merkitsevä, oli metioniinin pitoisuus pieni pelkässä härkäpuruokinnassa. Sen ja rypsiruuokinnan välinen ero pitoisuudessa vastasi aiempia tutkimuksia (Puhakka ym. 2016, Lamminen ym. 2019), minkä perusteella metioniini olisi voinut olla rajoittava aminohappo. Toisaalta plasman metioniinipitoisuuden runsas lisääntyminen ilman vaikutusta muiden ravintoaineiden pitoisuuteen plasmassa pötsisuojattua metioniinia annettaessa tukee sen vähäistä tuotosvaikutusta. Toisin sanoen metioniini ei olisi ollut härkäpuruokinnassa tuotosta rajoittava tekijä.

Metioniinin valtimo- ja laskimopitoisuuden erotus on aiemminkin pysynyt vakaana huolimatta sen lisääntyneestä valtimopitoisuudesta eli sen otto maitorauhaseen riippuu tarpeesta eikä sen saatavuudesta plasmasta (Guinard ja Rulquin 1995, Madsen ym. 2005). Aminohappojen otto maitorauhaseen oli valkuaisruokinnoissa yhtä suurta kuten oli maitovalkuaisen tuotanto. Vaikka valkuaisruokintojen välisiä merkitseviä eroja maitorauhasen aminohappojen otossa ei ollutkaan, on merkillepantavaa metioniinin oton väheneminen härkähäpuruokinnassa ja lisääntyminen pötsisuojuuttua metioniinia annettaessa, kun muut aminohapot käyttäytyivät päinvastoin. Tämän perusteella metioniinista olisi voinut olla puutetta härkähäpuruokinnassa, mutta sen lisääminen ei silti lisännyt valkuaisen tuotantoa maitorauhasessa. Välttämättömien aminohappojen maitorauhaseen oton pieneneminen ei aina näy pienentyneenä valkuaisuutena (Guinard ja Rulquin 1995), mutta tämäkin tukee johtopäätöstä, että metioniinilisän merkitys maitotuotokseen oli korkeintaan vähäinen.

5 Johtopäätökset

Vastoin hypoteesia, teollisesti käsitelty härkähäpuru ei ollut rypsiä huonompi rehu maidontuotannossa. Maitotuotos oli tutkimuksessa maltillinen suhteessa runsaaseen valkuaisruokintaan, minkä vuoksi valkuaisruokintojen väliset erot eivät välttämättä tulleet niin voimakkaasti esiin. Yhtä kaikki, tutkimuksen perusteella riittävän voimakkaasti kuumennuskäsitelty härkähäpuru on varteen otettava valkuaisrehu, jolla voidaan lisätä ja monipuolistaa kotimaisten valkuaisrehujen käyttöä. Kaikkiaan rypsin ja härkähäpuruun vaikutukset lehmien tuotokseen ja aineenvaihduntaan olivat tutkimuksessa varsin yhtäläiset. Mahdollinen metioniinin puutos härkähäpuruokinnassa ei rajoittanut tuotosta eikä toisen hypoteesin mukaista tehostumista valkuaisen hyväksikäytössä havaittu annettaessa lehmille metioniinilisää. Vaikka pötsisuojuuttua metioniinin käyttö lisäsi maidon valkuaispitoisuutta, sen kokonaisvaikutus maitotuotokseen jäi vähäiseksi. Tosin plasman aminohappopitoisuudet antoivat viitteitä metioniinin riittämättömyydestä härkähäpuruokinnassa. Siksi pötsisuojuuttua metioniinin käytöstä härkähäpuruun valkuaisen aminohappokoostumuksen tasapainottajana suurituottoisen lypsykarjan rehussa kaivataan lisätutkimusta.

Kiitokset

Kiitän ohjaajiani yliopistonlehtori Anni Halmemies-Beauchet-Filleauta ja professori Aila Vanhataloa tuesta, neuvoista ja kannustuksesta tutkielman tekemisessä. Lisäksi kiitos kuuluu kaikille työn pohjana olleeseen ruokintakokeeseen osallistuneille Viikin tutkimustilan ja laboratorion työntekijöille. Haluan kiittää myös perhettäni kärsivällisyydestä tutkielman teon aikana.

Lähteet

- Adewuyi, A. A., Gruys, E. & Eerdenburg, F. J. C. M. 2005. Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly* 27(3): 117–126.
- Aguilera, J. F., Bustos, M. & Molina, E. 1992. The degradability of legume seed meals in the rumen: effect of heat treatment. *Animal Feed Science and Technology* 36(1-2): 101–112.
- Albrecht, J. J. 2012. Replacing corn and soybean meal in lactating dairy cow diets with field peas (*Pisum sativum*). Maisterintutkielma. Dairy and Food Science Department, South Dakota State University, Brookings. 72 s. (Tiivistelmä). <https://openprairie.sdstate.edu/etd/1527/>. Viitattu 20.4.2020.
- Baker, D. H. 2006. Comparative species utilization and toxicity of sulfur amino acids. *Journal of Nutrition* 136(6S): 1670S–1675S.
- Bayat, A. R., Ventto, L., Kairenius, P., Stefanski, T., Leskinen, H., Tapio, I., Negussie, E., Vilkki, J. & Shingfield, K. J. 2017. Dietary forage to concentrate ratio and sunflower oil supplement alter rumen fermentation, ruminal methane emissions, and nutrient utilization in lactating cows. *Translational Animal Science* 1(3): 277–286.
- Benchaar, C., Vernay, M., Bayourthe, C. & Moncoulon, R. 1994. Effects of extrusion of whole horse beans on protein digestion and amino acid absorption in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 77(5): 1360–1371.
- Berthiaume, R., Dubreuil, P., Stevenson, M., McBride, B. W. & Lapierre, H. 2001. Intestinal disappearance and mesenteric and portal appearance of amino acids in dairy cows fed ruminally protected methionine. *Journal of Dairy Science* 84(1): 194–203.
- Boguhn, J., Kluth, H. & Rodehutschord, M. 2006. Effect of total mixed ration composition on amino acid profiles of different fractions of ruminal microbes in vitro. *Journal of Dairy Science* 89(5): 1592–1603.
- Broderick, G. A. 2003. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86(4): 1370–1381.
- Cherif, C., Hassanat, F., Claveau, S., Girard, J., Gervais, R. & Benchaar, C. 2018. Faba bean (*Vicia faba*) inclusion in dairy cow diets: effect on nutrient digestion, rumen fermentation, nitrogen utilization, methane production, and milk performance. *Journal of Dairy Science* 101(10): 8916–8928.
- Cozzi, G., Andrighetto, I., Berzaghi, P. & Polan, C. E. 1995. In situ ruminal disappearance of essential amino acids in protein feedstuffs. *Journal of Dairy Science* 78(1): 161–171.
- Cros, P., Vernay, M. & Moncoulon, R. 1991. In situ evaluation of the ruminal and intestinal degradability of extruded whole horsebeans. *Reproduction, Nutrition, Development* 31(3): 249–255.
- Donkin, S. S., Varga, G. A., Sweeney, T. F. & Muller, L. D. 1989. Rumen-protected methionine and lysine: effects on animal performance, milk protein yield, and physiological measures. *Journal of Dairy Science* 72(6): 1484–1491.

- Duc, G., Marget, P., Esnault, R., Guen, J. & le Bastianelli, D. 1999. Genetic variability for feeding value of faba bean seeds (*Vicia faba*): comparative chemical composition of isogenics involving zero-tannin and zero-vicine genes. *Journal of Agricultural Science* 133(2): 185–196.
- Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T. & Webster, G. 1989. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72: 68–78.
- Erasmus, L. J., Botha, P. M., Cruywagen, C. W. & Meissner, H. H. 1994. Amino acid profile and intestinal digestibility in dairy cows of rumen-undegradable protein from various feedstuffs. *Journal of Dairy Science* 77(2): 541–551.
- Erdman, R. A., Proctor, G. H. & Vandersall, J. H. 1986. Effect of rumen ammonia concentration on in situ rate and extent of digestion of feedstuffs. *Journal of Dairy Science* 69(9): 2312–2320.
- Heuzé V., Tran G., Delagarde R., Lessire M., Lebas F., 2018. Faba bean (*Vicia faba*). Feedipedia. <https://feedipedia.org/node/4926>. Julkaistu 2018. Viitattu 16.5.2020.
- Heuzé V., Tran G., Sauvant D., Lessire M., Lebas F., 2020. Rapeseed meal. Feedipedia. <https://www.feedipedia.org/node/52>. Julkaistu 2020. Viitattu 16.5.2020.
- Ferruzzi, G., Pistoia, A., Balestri, G., Casarosa, L. & Poli, P. 2009. Effect of different processing methods on the nutritional characteristics and tannin content of fababean seed (*Vicia faba minor*). *Italian Journal of Animal Science* 8(Supplement 2): 298–300.
- Firkins, J. L., Eastridge, M. L., St-Pierre, N. R. & Noftsker, S. M. 2001. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle *Journal of Animal Science* 79(E. Suppl.): E218–E238.
- Friedel, K. 1990. Die Schätzung des energetischen Futterwertes von Grobfutter mit Hilfe einer Cellulasemethode. [The estimation of the energetic feeding value of roughages by means of a cellulase method]. *Wissenschaftliche Zeitung Universität Rostock, N-Reihe* 39: 78–86.
- Gidlund, H., Hetta, M., Krizsan, S. J., Lemosquet, S. & Huhtanen, P. 2015. Effects of soybean meal or canola meal on milk production and methane emissions in lactating dairy cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science* 98(11): 8093–8106.
- Goelema, J. O., Spreeuwenberg, M. A. M., Hof, G., Poel, A. F. B. & van der Tamminga, S. 1998. Effect of pressure toasting on the rumen degradability and intestinal digestibility of whole and broken peas, lupins and faba beans and a mixture of these feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 76(1/2): 35–50.
- Goelema, J. O., Smits, A., Vaessen, L. M. & Wemmers, A. 1999. Effects of pressure toasting, expander treatment and pelleting on in vitro and in situ parameters of protein and starch in a mixture of broken peas, lupins and faba beans. *Animal Feed Science and Technology* 78(1/2): 109–126.
- Guinard, J. & Rulquin, H. 1995. Effects of graded amounts of duodenal infusions of methionine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 78(10): 2196–2207.
- Hanigan, M. D., Reynolds, C. K., Humphries, D. J., Lupoli, B. & Sutton, J. D. 2004. A model of net amino acid absorption and utilization by the portal-drained viscera of the lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science* 87(12): 4247–4268.
- Harmon, D. L., Yamka, R. M. & Elam, N. A. 2004. Factors affecting intestinal starch digestion in ruminants: a review. *Canadian Journal of Animal Science* 84(3): 309–318.
- Hoover, W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal of Dairy Science* 69(10): 2755–2766.
- Hristov, A. N., Price, W. J. & Shafii, B. 2004. A Meta-Analysis Examining the Relationship Among Dietary Factors, Dry Matter Intake, and Milk and Milk Protein Yield in Dairy Cows *Journal of Dairy Science* 87(8): 2184–2196.

- Huhtanen, P. & Shingfield, K. J. 2005. Grass silage: factors affecting efficiency of N utilization in milk production Teoksessa: Park, R. S. & Stronge, M. D. (toim.). Silage production and utilization. Proceedings of the XIVth International Silage Conference, a satellite workshop of the XXth International Grassland Congress, Belfast, Northern Ireland, July 2005. s. 35-50
- Huhtanen, P. 1998. Supply of nutrients and productive responses in dairy cows given diets based on restrictively fermented grass silage. *Agricultural and Food Science in Finland* 7: 219–250.
- Huhtanen, P. 2010. Märehtijöiden valkuaisarvojärjestelmä (OIV-PVT) uudistuu. Teoksessa: Hopponen, A. (toim.). Maataloustieteen päivät 2010. Suomen Maataloustieteellisen Seuran julkaisuja nro 26. 9 s.
- 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(1): 204–216.
- Huhtanen, P., Nousiainen, J. & Rinne, M. 2006. Recent developments in forage evaluation with special reference to practical applications. *Agricultural and Food Science* 15: 293–323.
- 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(4): 529–543.
- Huida, L., Väätäinen, H. & Lampila, M. 1986. Comparison of dry matter contents in grass silages as determined by oven drying and gas chromatographic water analysis. *Annales Agriculturae Fenniae* 25: 215–230.
- Ingalls, J. R. & McKirdy, J. A. 1974. Faba bean as a substitute for soybean meal or rapeseed meal in rations for lactating cows. *Canadian Journal of Animal Science* 54(1): 87–89.
- Ingalls, J. R., McKirdy, J. A. & Sharma, H. R. 1980. Nutritive value of fababeans in the diets of young Holstein calves and lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 60(3): 689–698.
- Ipharraguerre, I.R. & Clark, J.H. 2005. Varying protein and starch in the diet of dairy cows. II. Effects on performance and nitrogen utilization for milk production. *Journal of Dairy Science* 88: 2556–2570.
- Ipharraguerre, I.R. & Clark, J.H. 2005. Impacts of the Source and Amount of Crude Protein on the Intestinal Supply of Nitrogen Fractions and Performance of Dairy Cows *Journal of Dairy Science* 88: (E. Suppl.): E22–E37.
- Iwanska, S., Strusinska, D. & Pysera, B. 1999. Effect of rumen protected methionine supplementation on early lactational responses of dairy cows fed a grass silage and cereals diet. *Acta Veterinaria Hungarica* 47(2): 191–206.
- Jaakkola, S. & Huhtanen, P. 1993. The effects of forage preservation method and proportion of concentrate on nitrogen digestion and rumen fermentation in cattle. *Grass and Forage Science* 48(2): 146–154.
- Jaakkola, S., Sairanen, A., Nousiainen, J. & Rinne, M. 2010 Säilöntä ja rehujen laatu. Teoksessa: Peltonen, S., Puuronen, T. & Harmoinen, T. (toim.). Nurmirehujen tuotanto ja käyttö. Hämeenlinna: ProAgraria Keskusten Liitto. s. 87–98
- Jatkauskas, J. & Vrotniakienè, V. 2007. Effect of *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Enterococcus faecium* and *L. lactis* microbial supplementation of grass silage on the fermentation characteristics in rumen of dairy cows. *Veterinarija ir Zootechnika* (40): 29–34.
- Kaukovirta-Norja, A., Leinonen, A., Mokkila, M., Wessberg, N. & Niemi, J. 2015. Tiekartta Suomen proteiiniomavaraisuuden parantamiseksi. Teoksessa: Mokkila, M. (toim.) VTT visions 6. Teknologian tutkimuskeskus VTT Oy. 66 s.

- Kokkonen, T., Tuori, M. & Syrjala-Qvist, L. 2000. Effect of silage dry matter content and rapeseed meal supplementation on dairy cows. 2. Rumen fermentation and digesta passage rate. *Animal Feed Science and Technology* 84(3/4): 229–242.
- Korhonen, M., Vanhatalo, A., Varvikko, T. & Huhtanen, P. 2000. Responses to graded postruminal doses of histidine in dairy cows fed grass silage diets. *Journal of Dairy Science* 83(11): 2596–2608.
- Korhonen, M., Ahvenjarvi, S., Vanhatalo, A. & Huhtanen, P. 2002. Supplementing barley or rapeseed meal to dairy cows fed grass-red clover silage: II. Amino acid profile of microbial fractions. *Journal of Animal Science* 80(8): 2188–2196.
- Korhonen, M., Ahvenjarvi, S., Vanhatalo, A. & Huhtanen, P. 2002. Supplementing barley or rapeseed meal to dairy cows fed grass-red clover silage: II. Amino acid profile of microbial fractions. *Journal of Animal Science* 80(8): 2188–2196.
- Kröber, T. F., Kreuzer, M., Senn, M., Langhans, W. & Sutter, F. 2000. Lactational and metabolic effects in cows of lysine and methionine added to a ration deficient according to the I.N.R.A. method. *Archives of Animal Nutrition* 53(4): 375–394.
- Lamminen, M., Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Kokkonen, T., Vanhatalo, A. & Jaakkola, S. 2019. The effect of partial substitution of rapeseed meal and faba beans by *Spirulina platensis* microalgae on milk production, nitrogen utilization, and amino acid metabolism of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 102(8): 7102–7117.
- Larsen, M., Lund, P., Weisbjerg, M. R. & Hvelplund, T. 2009. Digestion site of starch from cereals and legumes in lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 153(3/4): 236–248.
- Laukkanen, S. 2017. Mikrolevät soijan korvaajana lypsylehmien valkuaisruokinnassa. Kotieläinten ravitsemustieteen pro gradu-tutkielma. Helsingin yliopisto, maataloustieteiden laitos. 73 s.
- Lee, C., Hristov, A. N., Cassidy, T. W., Heyler, K. S., Lapierre, H., Varga, G. A., Veth, M. J., de Patton, R. A. & Parys, C. 2012. Rumen-protected lysine, methionine, and histidine increase milk protein yield in dairy cows fed a metabolizable protein-deficient diet. *Journal of Dairy Science* 95(10): 6042–6056.
- Lemosquet, S., Rigout, S., Bach, A., Rulquin, H. & Blum, J. W. 2004. Glucose metabolism in lactating cows in response to isoenergetic infusions of propionic acid or duodenal glucose. *Journal of Dairy Science* 87(6): 1767–1777.
- Luke 2020. Rehutaulukot ja ruokintasuositukset. Verkkojulkaisu. Luonnonvarakeskus. <http://www.mtt.fi/rehutaulukot>. Viitattu 2.5.2020.
- Madsen, T. G., Nielsen, L. & Nielsen, M. O. 2005. Mammary nutrient uptake in response to dietary supplementation of rumen protected lysine and methionine in late and early lactating dairy goats. *Small Ruminant Research* 56(1/3): 151–164.
- Martineau, R., Ouellet, D. R. & Lapierre, H. 2014. The effect of feeding canola meal on concentrations of plasma amino acids. *Journal of Dairy Science* 97(3): 1603–1610.
- Martineau, R., Ouellet, D. R., Patton, R. A., White, R. R. & Lapierre, H. 2019. Plasma essential amino acid concentrations in response to casein infusion or ration change in dairy cows: a multilevel, mixed-effects meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 102(2): 1312–1329.
- Masoero, F., Pulimeno, A. M. & Rossi, F. 2005. Effect of extrusion, expansion and toasting on the nutritional value of peas, faba beans and lupins. *Italian Journal of Animal Science* 4(2): 177–189.
- Masoero, F., Moschini, M., Fusconi, G. & Piva, G. 2006. Raw, extruded and expanded pea (*Pisum sativum*) in dairy cows diets. *Italian Journal of Animal Science* 5(3): 237–247.
- McAllan, A. B., Sutton, J. D., Beever, D. E. & Napper, D. J. 1994. Rumen fermentation characteristics and duodenal nutrient flow in lactating cows receiving two types of

- grass silage with two levels of concentrates. *Animal Feed Science and Technology* 46(3/4): 277–291.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta* 17: 297–304.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A. & Wilkinson R. G. 2011. *Animal Nutrition*. 7. painos. Harlow, UK: Pearson Education Ltd. 692 s.
- Mendowski, S., Chapoutot, P., Chesneau, G., Ferlay, A., Enjalbert, F., Cantalapiedra-Hijar, G., Germain, A. & Noziere, P. 2019. Effects of replacing soybean meal with raw or extruded blends containing faba bean or lupin seeds on nitrogen metabolism and performance of dairy cows *Journal of Dairy Science* 102: 5130–5147.
- Mendowski, S., Chapoutot, P., Chesneau, G., Ferlay, A., Enjalbert, F., Cantalapiedra-Hijar, G., Germain, A. & Noziere, P. 2020. Effects of pretreatment with reducing sugars or an enzymatic cocktail before extrusion of fava bean on nitrogen metabolism and performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 103(1): 396–409.
- Moharrery, A., Larsen, M. & Weisbjerg, M. R. 2014. Starch digestion in the rumen, small intestine, and hind gut of dairy cows - a meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology* 192: 1–14.
- Mordenti, A. L., Merendi, F., Fustini, M. & Formigoni, A. 2007. Effects of different protein plants in cows diet on milk for Parmigiano Reggiano production. *Italian Journal of Animal Science* 6(Supplement 1): 463–465.
- Murphy, M., Khalili, H. & Huhtanen, P. 1993. The substitution of barley by other carbohydrates in grass silage based diets to dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 41(4): 279–296.
- Nocek, J. E. & Tamminga, S. 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *Journal of Dairy Science* 74(10): 3598–3629.
- Nousiainen, J., Rinne, M., Hellämäki, M. & Huhtanen, P. 2003. 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: 97–111.
- 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(5): 1704–1712.
- Overton, T. R., LaCount, D. W., Cicela, T. M. & Clark, J. H. 1996. Evaluation of a ruminally protected methionine product for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79(4): 631–638.
- Overton, T. R., Emmert, L. S. & Clark, J. H. 1998. Effects of source of carbohydrate and protein and rumen-protected methionine on performance of cows. *Journal of Dairy Science* 81(1): 221–228.
- Papas, A. M., Sniffen, C. J. & Muscato, T. V. 1984. Effectiveness of rumen-protected methionine for delivering methionine postruminally in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 67(3): 545–552.
- Pereira, A. B. D., Whitehouse, N. L., Aragona, K. M., Schwab, C. S., Reis, S. F. & Brito, A. F. 2017. Production and nitrogen utilization in lactating dairy cows fed ground field peas with or without ruminally protected lysine and methionine. *Journal of Dairy Science* 100(8): 6239–6255.
- Petit, H. V., Rioux, R. & Ouellet, D. R. 1997. Milk production and intake of lactating cows fed raw or extruded peas. *Journal of Dairy Science* 80(12): 3377–3385.
- Puhakka, L., Jaakkola, S., Kokkonen, T. & Vanhatalo, A. 2014. Härkäpapu lypsylehmien valkuaisrehuna. Teoksessa: Hakojärvi, M. & Schulman, N. (toim.). Maataloustieteen päivät 2014. Suomen Maataloustieteellisen Seuran julkaisu nro 30. 7 s.

- Puhakka, L., Jaakkola, S., Simpura, I., Kokkonen, T. & Vanhatalo, A. 2016. Effects of replacing rapeseed meal with fava bean at 2 concentrate crude protein levels on feed intake, nutrient digestion, and milk production in cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science* 99(10): 7993–8006.
- Raggio, G., Pacheco, D., Berthiaume, R., Lobley, G. E., Pellerin, D., Allard, G., Dubreuil, P. & Lapierre, H. 2004. Effect of level of metabolizable protein on splanchnic flux of amino acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87(10): 3461–3472.
- Ramin, M., Hojer, A. & Hetta, M. 2017. The effects of legume seeds on the lactation performance of dairy cows fed grass silage-based diets. *Agricultural and Food Science* 26(3): 129–137.
- Reis, P. J., Tunks, D. A. & Sharry, L. F. 1973. Plasma amino acid patterns in sheep receiving abomasal infusions of methionine and cystine. *Australian Journal of Biological Sciences* 26(3): 635–644.
- Reynal, S. M. & Broderick, G. A. 2005. Effect of Dietary Level of Rumen-Degraded Protein on Production and Nitrogen Metabolism in Lactating Dairy Cows *Journal of Dairy Science* 88: 4045–4064.
- Rinne, M., Jaakkola, S. & Huhtanen, P. 1997. Grass maturity effects on cattle fed silage-based diets. 1. Organic matter digestion, rumen fermentation and nitrogen utilization. *Animal Feed Science and Technology* 67(1): 1–17.
- Robinson, P. H. 2010. Impacts of manipulating ration metabolizable lysine and methionine levels on the performance of lactating dairy cows: a systematic review of the literature. *Livestock Science* 127(2/3): 115–126.
- Robinson, P. H., Chalupa, W., Sniffen, C. J., Julien, W. E., Sato, H., Fujieda, T., Ueda, T. & Suzuki, H. 2000. Influence of abomasal infusion of high levels of lysine or methionine, or both, on ruminal fermentation, eating behavior, and performance of lactating dairy cows. *Journal of Animal Science* 78(4): 1067–1077.
- Robinson, P. H., Swanepoel, N. & Evans, E. 2010. Effects of feeding a ruminally protected lysine product, with or without isoleucine, valine and histidine, to lactating dairy cows on their productive performance and plasma amino acid profiles. *Animal Feed Science and Technology* 161(3/4): 75–84.
- Rogers, J. A., Krishnamoorthy, U. & Sniffen, C. J. 1987. Plasma amino acids and milk protein production by cows fed rumen-protected methionine and lysine. *Journal of Dairy Science* 70(4): 789–798.
- Salo, M.-L. 1965. Determination of carbohydrate fractions in animal foods and faeces. *Acta Agraria Fennica* 105: 1–102.
- Sanz Sampelayo, M. R., Perz, M. L., Gil Extremera, F., Boza, J. J. & Boza, J. 1999. Use of different dietary protein sources for lactating goats: milk production and composition as functions of protein degradability and amino acid composition. *Journal of Dairy Science* 82: 555–565.
- Satter, L. D. & Slyter, L. L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition* 32(2): 199–208.
- Schaefer, D. M., Davis, C. L. & Bryant, M. P. 1980. Ammonia saturation constants for predominant species of rumen bacteria. *Journal of Dairy Science* 63(8): 1248–1263.
- Schwab, C. G., Satter, L. D. & Clay, A. B. 1976. Response of lactating dairy cows to abomasal infusion of amino acids. *Journal of Dairy Science* 59(7): 1254–1270.
- Singh, C. K., Robinson, P. H. & McNiven, M. A. 1995. Evaluation of raw and roasted lupin seeds as protein supplements for lactating cows. *Animal Feed Science and Technology* 52(1/2): 63–76.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* 160: 61–68.

- Stojanović, B., Grubić Goran Đorđević, N., Božičković, A. & Davidović, V. 2019. Nitrogen use efficiency in dairy cattle. X International Agriculture Symposium, Agrosym 2019, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, 3-6 October 2019. Proceedings: 1523–1528.
- Suomen virallinen tilasto (SVT): Satotilasto [verkkojulkaisu]. Helsinki: Luonnonvarakeskus. <http://www.stat.fi/til/satot/index.html> Viitattu: 4.2.2020.
- Tufarelli, V., Khan, R. U. & Laudadio, V. 2012. Evaluating the suitability of field beans as a substitute for soybean meal in early-lactating dairy cow: production and metabolic responses. *Animal Science Journal* 83(2): 136–140.
- Udén, P. 1984. Digestibility and digesta retention in dairy cows receiving hay or silage at varying concentrate levels. *Animal Feed Science and Technology* 11(4): 279–291.
- Vaga, M., Hetta, M. & Huhtanen, P. 2017. Effects of heat treatment on protein feeds evaluated in vitro by the method of estimating utilisable crude protein at the duodenum. *Journal of animal physiology and animal nutrition* 101(6): 1259–1272.
- Van Keulen, J. & Young, B. A. 1977. Evaluation of insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science* 44: 282–287.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583–3597.
- 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(12): 2674–2685.
- Vanhatalo, A., Ahvenjarvi, S. & Jaakkola, S. 2004. Metabolic and production responses in dairy cows fed peas or rapeseed meal on grass silage based diet. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13(supplement 1): 231–234.
- Yu, P. 2005. Potential protein degradation balance and total metabolizable protein supply to dairy cows from heat-treated faba beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85(8): 1268–1274.
- Yu, P., Holmes, J. H. G., Leury, B. J. & Egan, A. R. 1998. Influence of dry roasting on rumen protein degradation characteristics of whole faba bean (*Vicia faba*) in dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 11(1): 35–42.
- Yu, P., Egan, A. R., Holmes, J. H. G. & Leury, B. J. 1998. Influence of dry roasting of whole faba beans (*Vicia faba*) on rumen degradation characteristics in dairy cows, II: starch. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 11(5): 503–509.
- Zanton, G. I., Bowman, G. R., Vazquez-Anon, M. & Rode, L. M. 2014. Meta-analysis of lactation performance in dairy cows receiving supplemental dietary methionine sources or postruminal infusion of methionine. *Journal of Dairy Science* 97(11): 7085–7101.