



2001-2001

תקופת המחקר:

257-0191-01

קוד מחקר:

Subject: NIRS UNAIDED METHODS IN RANGE
SCIENCE

Principal investigator: YAN LANDAU

Cooperative investigator:

Institute: Agricultural Research Organization (A.R.O.)

שם המחקר: שימוש בספקטרוסקופיה בתחום
NIR במדעי המרעה

חוקר ראשי: יאן לנדאו

חוקרים שותפים:

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן
50250

תקציר

רקע - קביעת הערך התזונתי של מרעה בעזרת NIRS היא פשוטה. אחרי כיוול המערכת, ניתן לבדוק כ-200 דוגמאות ליום.

מהלך העבודה והתוצאות - יצרנו מאגר של מעל 800 דוגמאות של צמחי שעורה, חיטה, סורגום וחריע. נראה שכיולים של תכולת חלבון, ADF, NDF ואפר בשעורה וחיטה מהימנות ומדוייקות מספיק לקביעת ערכם במרעית. לשם קביעת ערך תזונתי של מרעית מבוסס על בדיקות ADF ו-NDF, נראה כי ניתן לכלול את כל הדגנים במערכת משותפת של משוואות ללא פגיעה במהימנות ובדיוק התוצאות. הדיוק והמהימנות של חיזוי הרכב כימי בחריע (מודל לדו-פסיגיים) נמוך בהשוואה לדגנים. בדיקות חלבון בכל סוגי הצומח בNIRS מתאימות לדרישה בענף המרעה. חיזוי תכולת NDF ו-ADF בחריע אינה מדוייקת דיה. איכות החיזוי של נעכלות כרמ"ל דומה בצמחים שסקרנו, ואינה מספיק טובה כדי לשמש כגורם יחיד לחיזוי תכולת אנרגיה נעכלת במרעית. יהיה צורך, כנראה, להשתמש במשוואות ואן סוסט המבוססות על NDF, ADF ואפר, לביצוע מטרה זו.

ד"ר שנתית להנהלת ענף מרעה ולמדען הראשי: תוכנית 257-0191-01

שימוש בספקטרוסקופיה בתחום NIR במדעי המרעה

NIRS-aided methods in range science

י. לנדאו, ל. דבש המח' למשאבי טבע וגד"ש, המכון לגד"ש וגן, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן 50250

א. ברוש המח' לבקר, מינהל המחקר החקלאי, נווה יער המח' לפיזיולוגיה, הזנה ורבייה של בקר, מינהל המחקר החקלאי, בית דגן 50250 ל. לפשיץ, י. ברוקנטל

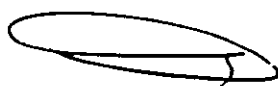
S. Landau, L. Devash, Department of Natural Resources and Agronomy, Institute of Field and Garden Crops, ARO, Bet Dagan, 50250 vclandau@agri.gov.il

A. Brosh, Department of Beef Science, Neve Yaar Research Center, P.O. Box 1021 Ramat Yishai brosha@netvision.net.il

L. Lifshitz, I. Bruckental, Department of Dairy Cattle Physiology, Nutrition and Reproduction, ARO, Bet Dagan, 50250 brucken@agri.huji.ac.il

December 2001

הממצאים בד"ר זה הגם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים



התימת החוקר

תקציר

קביעת ערך תזונתי של מרעה בעזרת NIRS פשוטה. אחרי כול המערכת, ניתן לבדוק כ-200 דוגמאות ליום. יצרנו מאגר של מעל 800 דוגמאות של צמחי שעורה, חיטה, סורגום וחריע. נראה שכולים של תכולת חלבון, ADF, NDF ואפר בשעורה וחיטה מהימנות ומדויקות מספיק לקביעת ערכם במרעית. לשם קביעת ערך תזונתי של מרעית מבוסס על בדיקות ADF ו-NDF, נראה כי ניתן לכלול את כל הדגמים במערכת משותפת של משוואות ללא פגיעה במהימנות ובדיוק התוצאות. הדיוק והמהימנות של חיזוי הרכב כימי בחריע (מודל לדו-פסיגיים) נמוך בהשוואה לדגמים. בדיקות חלבון בכל סוגי הצומח ב-NIRS מתאימות לדרישה בענף המרעה. חיזוי תכולת ADF ו-NDF בחריע אינה מדויקת דיה. איכות החיזוי של נעכלות כרמ"ל דומה בצמחים שסקרנו, ואינה מספיק טובה כדי לשמש כגורם יחיד לחיזוי תכולת אנרגיה נעכלת במרעית. יהיה צורך, כנראה, להשתמש במשוואות ואן סוסט המבוססות על ADF, NDF ואפר, לביצוע מטרות. בשנים הבאות, נבדוק את ההשפעה של הרחבת מאגר הדוגמאות על ממצאים אלה. כמו כן נכייל משוואות לטאניגים וחנוקות.

א. איכות מרעה

המרעה העשבוני הישראלי מאופיין בהטרוגניות הרבה שלו. הרכב הצמחיה הן מבחינה בוטנית והן מבחינת התכולה הכימית תלוי במגבלות אקלימיות (כגון כמות משקעים ואופן חלוקתם, טמפרטורה), בסוואי השטח (שיפוע, מפנה) וכן בממשק הרעיה. ערך המרעית עבור מעלי גירה תלוי במרכיבים כימיים. הצריכה קשורה חיובית עם ריכוז החלבון והפחממות המסיסות, ושילית עם ריכוז דופן תא צמחי (NDF). הנעכלות, שנגזר מננה הערך האנרגטי, קשורה באופן חיובי עם תכולת החלבון וקשורה שלילית עם תכולת ה-ADF. הבדיקות הקלאסיות של מרכיבים אלה יקרות ביותר (טבלה 1). היוקר נובע בעיקר מעלות כ"א, מפני שבשיטות הנפוצות של "כימיה רטובה", הספק כ"א בבדיקות מספוא הוא נמוך. בפועל, בגלל עלות הבדיקות לא קיים בארץ בסיס נתונים של הרכב כימי של מרעית על כל סוגיה. בדיקות הרכב ב-NIRS דורשות רק ייבוש וטחינה. מכאן, שעלותן נמוך יותר (טבלה 1).

טבלה 1: השוואה בין מחירי שוק של בדיקות מספוא הרלוואנטיות לענף המרעה לבין עלותן הצפויה ב-NIRS

סעיף	צפי עלות ב-NIR	מחיר לבדיקה (ש"ח)
חומר יבש	לא ייקבע	35
אפר		45
חלבון כללי		55
NDF	20	85
ADF		85
ליגנין		85
נעכלות כרמ"ל		300

עיקרון הספקטרוסקופיה בתחום Near Infrared (NIRS) הוא שאור באיזור ספקטראלי בין 1100 לבין 2500 ננומטר אשר מוחזר או חודר למוצקים טחונים דק מכיל מידע על הרכב החומר (קשרים בין C, N, O ו-H). המידע נגזר מוויברציות של אטומי מימן הקשורים לפחמן וחמצן. כל דבר המשפיע על חוזק קשרי המימן, ז"א, סוג הקשרים הכימיים, המסתכם במרכיבים כימיים משאיר חותם ספקטראלי (Weyer, 1985) המפוענח ע"י מחשב בפחות מדקה. שיטות NIRS מקובלות כיום רשמית ע"י AOAC לבדיקת חומר יבש, חלבון כללי (ח"כ) ומקטעי סיב (ADF, NDF, ליגנין). שיטות לבחירת דוגמאות, קליברציה (כיול) ווולידציה (אימות) של NIRS סוכמו ע"י Shenk and Westerhaus (1994). המכון לגד"ש רכש מכשיר NIRS מתוצרת FOSS NIR-SYSTEMS בתחילת שנת 2000 ותוכנת WinISI II לעיבוד מידע ספקטראלי (עיבוד מתמטי מבוסס על $\text{Log}(1/R)$). החלנו בשיתוף עם המעבדה של המכון לבע"ח כדלקמן: מעבדת גד"ש מבצעת בדיקות כרמ"ל וכל בדיקות NIRS ומעבדת בע"ח מבצעת כימיה רטובה לחלבון, אפר ומרכיבי סיב צמחי.

מטרות התוכנית בשנה הראשונה

מטרת התוכנית היא להעמיד לרשות ענף המרעה שיטות המבוססות על NIRS לקביעת איכות מרעה (הרכב בוסני וכימי, נעכלות) וצריכתו ע"י מעלי גירה ברעה.

שתי התכונות העיקריות הקובעות איכות מספואמרעית הן חלבון ותכולת אנרגיה זמינה. התכולה האנרגטית יכולה להגזר מנעכלות בכרס מלאכותית (כרמ"ל) או מתכולת מרכיבי דופן תא ואפר, ע"י שימוש במשוואות "ואן סוסט".

בשנה הראשונה, פותחו משוואות חיזוי של איכות תזונתית של דגימות צומח מהמשפחות העיקריות הנמצאות המרעה. נבחנו אסטרטגיות שונות של בניית משוואות חיזוי: "מצומצמות" או "רחבות". משוואות "מצומצמות" חזות הרכב לזן, באתר מסויים וניתן להרחיבן למאגר גדול יותר של זנים, משפחות, ואף לכל עולם הצומח.

שיטות

1. דגום

השלב המגביל הוא יוקר הכימיה הרטובה הדרושה לקבלת ערכי Reference לכיול. לפי התוכנית המקורית, היעד לבסיס הנתונים המינימאלי אחרי שנה היה: 500 דגמי חורף, 100 דגמי קיץ, 200 קטניות, 150 רחבי עלים, להשלמה לפי הדרישות הסטטיסטיות כפי שהם מבטאות בחלק SCORES של תוכנת ISI. בשלב זה, נעשו כיולי NIRS "מצומצמים" של דגמי חורף (שעורה וחיטה תרבותית), דגמי קיץ (סוגי סורגום שונים), כיולים "יותר רחבים" לכל הדגנים, כיולים "מצומצמים" לצמח מודל דו-פסיגי (חריע) וחוברו כל האוכלוסיות ל"מודל רחב" של עולם הצומח. לשם כך, שימשו צמחים בכל שלבי ההתפתחות משלב וגטיבי צעיר ועד קמילה. נדגמו דגימות שעורה מכמה קוי שעורה (אפילה ובכירה) בשני סוגי קרקע (מיגדה ובית דגן), ודוגמאות חיטה באותם אתרים. הסורגום היה משני קווים בשני אתרים (מגן וברקאי). החריע היתה מכמה קווים וגדלה בגילת, מיגדה ובית דגן.

2. טיפול בדוגמאות

הדוגמאות נדגמו במיגדה ובבית דגן במשך עונת 2001. כל הדוגמאות יובשו (3 ימים, 60 מעלות), נטחנו טחינה אחידה במטחנת Retsch בקוטר 2 מ"מ, נקבעו מרכיבי סיב (ADF, NDF, ליגנין) לאחר תוספת עמילאז במכשיר Tecator, ח"כ ב-Micro-Kjeldahl, אפר ב-400°C במשך 4 שעות (מעבדה של ישראל ברוקנטל), נעכלות כרמ"ל (מעבדה של יאן לנדאו).

3. בניית עקומות כיול

מספר הדוגמאות שישמש בתהליך הכיול והאימות היה לפי Martens and Naes (1987). האימות נעשה בשיטת Cross validation ז"א, תוכנת WINISI חילקה את הדוגמאות לסטים פנימיים שחלקם ישמשו לכיול וחלקם לאימות. הושו שיטת Modified Partial Least Squares MPLS ושיטת PCR, לאחר טרנספורמצית (Standard Normal Variance and De-trend, ISI, 1999).

תוצאות דיון

כיוול משוואות מיטבי נמצא בשיטת MPLS Modified Partial Least Squares (בשוואה לשיטת PCR), לאחר טרנספורמצית Standard Normal Variance and De-trend, במתכונת (1,4,4,1) של ISI.

1. דגני חורף: "משוואות מצומצמות"

חלבון - איכות החיזוי של ההרכב הכימי של שעורה בלבד (טבלה 2, $n=55$), חיטה בלבד (טבלה 3, $n=318$) ושל כלל דגני החורף (טבלה 4, $n=373$) נבחנה לפי שני קריטריונים: מקדם החיזוי (R^2) ושגיאת התקן של האימות. מקדמי החיזוי של חלבון כללי, NDF, ADF ואפר גבוהים לגבי שעורה וחיטה. שגיאת תקן בסדר גודל 1% בחיזוי חלבון אמנם כפולה מזו הדרושה בתעשית המזון, אך מתאימה לקבלת החלטות בענף המספוא או המרעה שבהם משתנה ההרכב הכימי מהר מאוד ובהם דוגמאות של אותו צמח שנדגמות בו זמנית שונות ביותר מ-1% חלבון. הגדלת בסיס הנתונים לא תקטין, כנראה, את שגיאת התקן של האימות. מכיוון שחיבור מאגרי החיטה והשעורה לא הגדיל את שגיאת הטאיות, ונראה שמשוואת החיזוי של החלבון חזקה (Robust) מספיק להכללת כל סוגי דגני החורף.

ADF, NDF, אפר - מקדמי החיזוי של שלשה אמדנים אלה גבוהים (עולים על 0.92). שגיאת התקן של אימות ADF ו-NDF כלולה בין 1.5 ל-3%. שגיאת התקן של אימות האפר היה כ-0.8% בבסיס הנתונים המשולב. נראה שחיזוי מרכיבי דופן תא (בניגוד לחלבון) מדויק יותר במערכת "קטנה", הכוללת רק שעורה, מאשר במאגר "דגני חורף". לאחר אימות משוואות אלה בכמה סוגי דגנים נוספים (חפורית, זון, שעורת העכבר, שיבולת שועל), לפי התוכנית, תהיה פתוחה הדרך לקביעת הערך האנרגטי של דגני חורף לפי משוואות ואן סוסט.

נעכלות כרמ"ל - למרות המאמץ הרב שהשקענו בנושא, חיזוי נעכלות כרמ"ל (0.85 בשעורה, 0.74 בחיטה) לא היה גבוה דיו למטרות חיזוי. הרחבת בסיס הנתונים הגדילה את ש.ת. של האימות. אין ודאות, אם כן, שקביעה ישירה של תכולת אנרגיה של דגני חורף ע"י כיוול נעכלות כרמ"ל ישימה.

טבלה 2: חיזוי ההרכב הכימי של צמחי שעורה בשלבים פנולוגיים שונים, כפי שמראה תחומי NDF (ללא הוצאת Outliers), ממגדה ובית דגן.

מס. דוגמאות	תחום	שגיאת תקן של הכיוול	שגיאת תקן של האימות	מקדם חיזוי (R^2)
NDF	55	65.0-32.8	1.1	1.9
ADF	55	37.0-17.9	1.1	1.4
חלבון כללי	55	28.4-9.9	0.9	1.1
אפר	55	15.6-4.9	0.56	0.87
נעכלות כרמ"ל	46	88.6-66.3	2.2	2.6
				0.85

טבלה 3: חיזוי הרכב הכימי של צמחי חיטה בשלבים פנולוגיים שונים, כפי שמראה תחומי NDF (ללא הוצאת Outliers), ממגדה ובית דגן.

מס. דוגמאות	תחום	שגיאת תקן של הכיול	שגיאת תקן של האימות	מקדם חיזוי (R^2)	
NDF	318	82.6-12.1	2.7	2.8	0.92
ADF	318	48.0-5.6	1.6	1.7	0.93
חלבון כללי	318	33.3-2.1	0.81	0.95	0.99
אפר	318	29.5-2.7	0.59	0.77	0.95
נעכלות כרמ"ל	288	90.7-40.0	3.7	3.7	0.74

טבלה 4: חיזוי ההרכב הכימי של צמחי חיטה ושעורה בשלבים פנולוגיים שונים, כפי שמראה תחומי NDF (ללא הוצאת Outliers), ממגדה ובית דגן.

מס. דוגמאות	תחום	שגיאת תקן של הכיול	שגיאת תקן של האימות	מקדם חיזוי (R^2)	
NDF	373	82.7-12.1	2.7	2.8	0.93
ADF	373	48.0-5.6	1.6	1.7	0.93
חלבון כללי	373	33.3-2.1	0.87	1.0	0.99
אפר	373	29.5-2.7	0.61	0.75	0.94
נעכלות כרמ"ל	333	90.7-50.9	3.5	3.6	0.73

2. דגני קיץ ומשוואות "לכל הדגנים"

ל זה שימשו לכיו 186 דוגמאות של עלים, גבעולים וצמח שלם של סורגום משני זנים שגדל בשני אתרים (מגן וברקאי; טבלה 5). מהימנות חיזוי NDF, ADF נמצאה דומה לזה שהתקבלה בדגני חורף. כאשר חוברו כל הדוגמאות למאגר אחד של דגנים (טבלה 6), מקדמי החיזוי של מרכיבי ואן סוסט נמצאו גבוהים דיים. חיבור מס' רב של דוגמאות לא שיפרה את החיזוי.

טבלה 5: חיזוי ההרכב הכימי של צמחי סורגום בשלבים פנולוגיים שונים, כפי שמראה תחומי NDF (ללא הוצאת Outliers), שגדלו במגן או בברקאי.

מס. דוגמאות	תחום	שגיאת תקן של הכיול	שגיאת תקן של האימות	מקדם חיזוי (R^2)	
140	82.7-44	2.7	2.8	0.88	NDF
140	53.9-27.3	1.5	1.8	0.89	ADF
140	12.6-2.0	0.83	0.96	0.90	ADL
140	90.7-50.9	4.3	4.4	0.69	נעכלות כרמ"ל

טבלה 6: חיזוי ההרכב הכימי של ADF ו-NDF של מאגר הדגנים כולו (דגני חורף וקיץ 2001)

מס. דוגמאות	תחום	שגיאת תקן של הכיול	שגיאת תקן של האימות	מקדם חיזוי (R^2)	
513	82.6-12.1	2.8	2.9	0.93	NDF
513	53.9-5.6	1.6	1.7	0.96	ADF
502	90.7-40.0	4.0	4.2	0.80	נעכלות כרמ"ל

3. חריע, כמודל של דו-פסיגי

בהשוואה לחיטה ושעורה, מקדמי החיזוי של הרכב כימי בחריע היו נמוכים יותר, ושגיאות התקן גדולות פי שתיים. זאת, למרות גודל דומה של מאגר דוגמאות (טבלה 7). רק חיזוי החלבון והאפר מהימנים דיים כבר בשלב זה, אך חיזוי מרכיבי דופן תא אפשרי במהימנות בינונית. דרוש מאמץ להגדלת השונות של האוכלוסיה במאגר זה.

טבלה 7: חיזוי הרכב הכימי של צמחי חריע בשלבים פנולוגיים שונים (ללא הוצאת Outliers), ממגדה, גילת ובית דגן.

מס. דוגמאות	תחום	שגיאת תקן של הכיול	שגיאת תקן של האימות	מקדם חיזוי (R^2)	
267	79.5-22.0	5.5	5.6	0.88	NDF
267	58.3-15.4	4.2	4.3	0.89	ADF
267	32.2-1.9	2.1	2.2	0.92	חלבון כללי
267	19.9-2.5	1.3	1.4	0.87	אפר
246	87.6-33.0	3.1	3.6	0.94	נעכלות
					בדג"ל

4. משוואות חיזוי רחבות "לכל עולם הצומח"

חיבור כל הדוגמאות במאגר שיצרנו מביא למשוואות חיזוי "רחבות" מתוארות בטבלה 8. חיזוי ריכוז החלבון יכול להעשות במהימנות בינונית ($\pm 1.5\%$). בגלל שגיאת תקן גדולה, ולמרות מקדמי חיזוי גבוהים, לא נראה שיש יתרון בבניית משוואות רחבות כאלה לחישוב ערך אנרגטי.

טבלה 8: חיזוי הרכב הכימי של צמחי דגנים וחריע בשלבים פנולוגיים שונים - ללא הוצאת Outliers - ממגדה ובית דגן.

מס. דוגמאות	תחום	שגיאת תקן של הכיול	שגיאת תקן של האימות	מקדם חיזוי (R^2)	
NDF	781	79.5-22.0	4.0	4.2	0.90
ADF	781	58.3-15.4	2.7	2.9	0.92
חלבון כללי	641	32.2-1.9	1.5	1.6	0.97
אפר	641	19.9-2.5	1.3	1.4	0.87
נעכלות כרמ"ל	823	90.7-33.0	3.8	4.0	0.88

סיכום עם שאלות מנחות

מטרות המחקר לתקופת הד"ח תוך התייחסות לתוכניות העבודה. טכנולוגיית NIRS חדשה במכון לגד"ש. לא נעשות בדיקות מרעית בד"כ בגלל עלותן. מטרת המחקר בשנה זו הייתה לבחון את הדיוק והמהימנות של טכנולוגיה זו לקביעת ערך תזונתי של מרעית. אחת המטרות הייתה לבדוק אם עדיף לקבוע את תכולת האנרגיה המטבולית ע"י כיול NIRS של נעכלות כרמ"ל או של משתני ואן סוסט.

עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופת הד"ח. נסרקו ועברו בדיקות כימיות 800 דוגמאות צומח מצמחים חד-ודו-פסיגיים. הבדיקות כללו נעכלות כרמ"ל, ריכוז חלבון, ומשתני ואן סוסט.

המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. ניתן לחזות בדרגת מהימנות ודיוק מספיקים (לענף המרעה) את הערך התזונתי של דגני חורף (חיזוי טוב), דגני קיץ ודו-פסיגיים (חיזוי בינוני). נראה שכיול למשתני ואן סוסט עדיף על פני כיול ישיר לנעכלות כרמ"ל.

הבעיות שנתרו לפיתרון. לא נעשו כיולים לחומרים משניים (טאנינים, חנקות). יש להרחיב מאגר הנתונים לצמחי מרעה נוספים, בעיקר קטניות. בשנה הבאה נתחיל לפתח שיטות לחיזוי צריכה ונעכלות פרטניים של מעלי גירה במרעה.

הפצת מידע: טרם החלה

ספרות

- Coleman, S.W., Barton, F.E., Meyer, R.D. (1985). The use of near infrared reflectance spectroscopy to predict species composition of forage mixtures. *Crop Sci.*, 25: 834-837.
- ISI (1999). WinISI II, the complete software solution for routine analysis, robust calibrations and networking. Version 1.02A. Infracsoft International, Port Matilda, PA (USA).
- Martens, H., Naes, T. (1987). Multivariate calibration by data compression. In: Phil Williams and Karl Norris Eds. *Near infrared technology in the agricultural and food industries*, pp. 57-87. American Association of Cereal Chemists (St-Paul, MN)
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O. (1994). The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: G.C. Fahey, L.E. Moser, D.R. Mertens and M. Collins (Ed.) *Forage quality, evaluation and utilization*, pp. 406-449. ASA, CSSA and SSSA, Madison, Wisconsin.
- Weyer, L.G. (1985). Near Infrared spectroscopy of organic substances. *Appl. Spectroscop. Rev.*, 21: 1-43.