

SLF-projekt V1030063: Nordisk vidareutveckling av laboratoriemetoder för osmältbar neutral detergent fiber (iNDF) i foderprover

Slutrapport 2013-12-31

Sökande: Torsten Eriksson

Nordisk vidareutveckling av laboratoriemetoder för osmältbar neutral detergent fiber (iNDF) i foderprover

Bakgrund

Den viktigaste analysparametern i Norforssystemet är andelen osmältbar *Neutral Detergent Fiber* (iNDF), där referensmetoden är inkubation *in sacco* i våmfistulerad ko under 288 h. Det finns ett stort behov av laboratoriemetoder för iNDF som ersättning för eller komplement till referensmetoden. Den svenska standardmetoden för smältbarhet och skattning av omsättbar energi i vallfoder, VOS-metoden, har i tidigare projekt (SLF H0630380; Eriksson, 2008) visat sig korrelera väl till iNDF för de vanligaste valltyperna och för helsäd. Projektet visade också att det var tekniskt möjligt att förlänga VOS-inkubationer upp till 288 h, samma tid som för referensmetoden.

Syfte

Mål för den svenska delen av projektet:

- Vidareutveckla *in vitro*-metodik med utgångspunkt i VOS-analysen för att nå samma fiberbrytning som i referensmetoden iNDF *in sacco*
- Analysera nya prover beträffande fiberinnehåll, VOS och iNDF med referensmetoden

Material och metoder

Prover

I denna rapport redovisas de samlade resultaten från det tidigare projekt SLF H0630380 och innevarande projekt vad gäller jämförelse mellan iNDF *in sacco* och *in vitro*-metoder. Från det tidigare projektet fanns 112 prover med jämförelse mellan iNDF *in sacco* och VOS samt 9 jämförelser mellan iNDF *in sacco* och 192 h *in vitro* inkubation med neutral detergent (ND) - behandling. Underlaget har nu ökat ut till 476 jämförelser mellan iNDF *in sacco* och VOS samt 273 jämförelser mot 192 h *in vitro*-inkubation med ND-behandling. Proven härrör från utfodrings- och laborieförsök vid SLU, från de insamlingar som gjorts för Norfors provbank och från danska och norska försök, där kollegor bidragit med prover från utvalda kategorier. Av proven kommer 50 från Danmark, 13 från Norge och 1 från Finland, resterande 412 prover är insamlade i Sverige.

VOS-analys

VOS-analyserna gjordes enligt rutin vid Kungsängens forskningscentrum (Lindgren, 1979) på prover malda på hammarkvarn med 1 mm såll. 500 mg prov vägdes in i duplikat i glasfilterrör med porstorlek 1 (100-160 µm). Våmvätska från en sinko utfodrad på underhållsnivå silades genom ett nät under gasning med koldioxid och blandades med VOS-buffert i proportionerna 1 del våmvätska:49 delar buffert på volymsbasis. Till varje rör sattes 50 ml av blandningen och proven inkuberades under 96 h i vattenbad vid 39° C. Vid inkubationsbrytningen sögs vätskan bort genom glasfiltret och provet sköljdes tre gånger med avjonat vatten och tre gånger med aceton, torkades vid 103 C° över natten och askades. Mängden onedbruten organisk substans beräknades som viktskillnaden mellan torkning och askning.

Långtidsinkubation 192 h in vitro med ND-behandling

Långtidsinkubationer 192 h med åtföljande behandling med neutral detergent (ND) gjordes på samma sätt som i det tidigare projektet SLF H0630380. Proven inkuberades som vid VOS-bestämning men i glasfilterrör med porstorlek 2 (40-100 µm), den porstorlek som vanligen används vid NDF-analys. Vid inkubationsbrytningen sköljdes proven enbart med avjonat vatten. Sedan sattes 50 ml ND-lösning till röret och det placerades i värmeskåp 22 timmar vid 85 °C för analys av NDF, med tillsats av 0.1 ml amylas (Termamyl 300L) och 0.5 g natriumsulfit under de två sista timmarna av inkubationen .

iNDF in sacco

Alla analyser har gjorts vid Kungsängens forskningscentrum utom 31 prov som analyserats i Danmark och 12 prov som analyserats i Norge, i samtliga fall enligt Norfors standard.

Kolhydrattillsats för ökad nedbrytning in vitro

Ett försök gjordes att öka nedbrytningen *in vitro* hos vallprover genom att tillsätta cellulosa och/eller cellobios efter 96 h och sedan fortsätta inkubationen till totalt 192 h. I den första inkubationen provades fem tillsatskombinationer i duplikat (50 eller 100 mg cellulosa eller cellobios samt 50 mg cellulosa + 50 mg cellobios) och i den andra användes enbart kombinationen 50 mg cellulosa + 50 mg cellobios. Tillsatserna gjordes under anaeroba förhållanden efter 96 h inkubation. Inkubationen fick sedan fortsätta till 192 h och bröts enligt vanlig VOS-rutin. Vid brytningen kontrollerades pH för att säkerställa att bufferten klarade av den extra syrabildningen från tillsatsen.

Partikelförluster in sacco

Ett set med 19 prover användes för att undersöka om överensstämmelsen mellan inkubationsresten *in vitro* och iNDF-värdet *in sacco* förbättrades om *in vitro*-resten genomgick påstvätt efter inkubationen. Hypotesen var att den konsekvent mindre restmängd som *in sacco*-metoden ger, även då *in vitro*-inkubationen pågår lika länge, till viss del kan vara en artefakt från partikelförluster vid påstvätten. Proverna kom från Martin Weisbjerg, Aarhus universitet och var speciellt utvalda för att ha varierande nedbrytningskaraktär hos fibern. De bestod av gräs, klöver

och lusern samt helsäd av korn, ärt och lupin. Proven maldes på knivkvarn med 1.5 mm såll (standard för *in sacco*-bestämning), inkuberades och behandlades som beskrivits under ”Långtidsinkubation 192 h” men inkubationstiden var här 288 h, samma tid som *in sacco*-bestämning. Samtidigt inkuberades parallella prover i Kjeldahlrör, där resterna efter 288 h överfördes till *in sacco*-påsar och fick genomgå den normala efterbehandlingen för *in sacco*-bestämning, med påstvätt i maskin, torkning, vägning och överföring till filterrör för NDF-analys. Ytterligare replikat av proven analyserades för iNDF *in sacco* enligt rutin.

Ringtest av referensmetoder

Ett ringtest av referensmetoderna för NDF och iNDF *in sacco* genomfördes under perioden november 2011 – maj 2012 (Eriksson et al., 2012). I ringtestet deltog sex forskningslaboratorier och fyra kommersiella laboratorier som fick sig tillsända 10 prover av grovfoder och kraftfoder i torkat och grovmalet skick för preparering på respektive laboratorium. För två av proverna sändes dessutom färdigmalda replikat till laboratorierna.

Statistisk analys

Metoderna jämfördes med linjära regressioner i PROC GLM i SAS 9.3 och presenteras med Root Mean Square Error (RMSE) som spridningsmått. Referensmetoden *in sacco* var y-variabel i regressionerna. Variation mellan laboratorier och över tid analyserades med PROC VARCOMP i SAS.

Känslighetsanalys

Effekten av en analysvariation motsvarande standardfelet för regressionen med alla grov- och kraftfoderprover (18 g iNDF/kg OS) respektive för regressionen med lusernproven (16 g iNDF/kg OS) undersöktes med en simulering i Norfor. En enkel foderstat med ensilage ur Norfors fodertabell och Solid 120 optimerades för 100 % energibalans hos äldre kor i laktationsdag 1-300 och avkastningen 30 kg ECM. En förstaskörd med låg iNDF-andel, en andraskörd med hög iNDF-andel och ett lusernensilage användes. Optimeringarna gjordes med det ursprungliga tabellvärdet för iNDF samt med iNDF-halter motsvarande plus och minus ett standardfel.

Resultat och diskussion

Regressioner för iNDF in sacco mot VOS-rest respektive 192 h inkubation med ND-behandling

Regressioner för iNDF *in sacco* mot VOS-rest gav för hela provmaterialet liknande resultat som tidigare, med standardfel 17.6 g/kg OS (Tabell 1), trots vitt skilda provtyper som även inkluderade kraftfoder. Kraftfoderproven ensamma gav en regression som var identisk för renbestånd av gräs (Tabell 1, Figur 1). Fettrika prover kan ge problem vid filtrering (Personligt meddelande, Börje Ericson, Kungsängens laboratorium) och tre prover med rapskaka analyserades med och utan avfettning med aceton före VOS-inkubationen. VOS-resten minskade då 11 g/kg OS.

Uppdelningen i olika provkategorier i Tabell 1 visar hur spännvidden i värden på x-axeln för ett provset påverkar R^2 och standardfel för regressionerna. Exempelvis har setet med majsprover ett mycket lågt R^2 , men samtidigt också lägst standardfel. Vid användning av regressionerna i en modell är avvikelsen från regressionslinjen i form av standardfel viktigare än R^2 -värdet. Tabell 1 visar också hur stort standardfelet för olika provtyper blir om en gemensam regression tillämpas.

Baljväxterna hade generellt brantare lutning och mer negativt intercept än gräsen (Figur 2). Med skilda regressioner för renbestånd av vallbaljväxter respektive vallgräs minskade standardfelet. Det gällde allra mest för lusernproven, där standardfelet blev oacceptabelt om en gemensam regression tillämpades, 44 g/kg OS jämfört med 18 g/kg OS om baljväxtregressionen tillämpades. Med artvis uppdelning av proven minskade felet ännu mer, men underlaget med artvisa prover är dock fortfarande så litet att det är tveksamt att tillämpa skilda regressioner för enskilda arter. Det finns i många fall beroende inom ett sådant artprovset, genom att prover delvis har ursprung i samma försöksserie och att referensanalysen i större utsträckning har gjorts i samma analysomgång. Däremot är underlaget tillräckligt stort för en uppdelning i separata regressioner för vallbaljväxter respektive vallgräs, men för praktiskt bruk tillkommer i så fall frågan vid vilken baljväxtandel gränsen skall dras. Det vore logiskt om viktning av gräs- och baljväxtregressionerna efter baljväxtandelen i blandvallsprover skulle ge en förbättrad skattning jämfört med att använda en gemensam regression. Bland vallproverna fanns 161 botaniskt sorterade prover, med baljväxtandel 1-89%. iNDF-värdet i dem predikerades dels med den gemensamma regressionen i Tabell 1, dels genom att vikta de skilda gräs- och baljväxtregressionerna från Figur 2 efter baljväxtandelen (resultatet ej i tabell). Viktning efter baljväxtandel innebar då en försämring, med standardfelet 15.7 g för prediktionen, jämfört med 13.9 g när den gemensamma vallregressionen från Tabell 1 användes.

Förlängning av inkubationen till 192 h med ND-behandling för 273 vallprover (Tabell 1) gav inte heller ett bättre samband med iNDF *in sacco* än vad VOS-metoden gjorde, istället blev det en liten försämring. Den samtidiga försämringen av både R^2 och standardfel tyder inte på att orsaken är den tidigare nämnda minskade spännvidden i x-värden som följer av mindre restmängd vid längre inkubation. I så fall borde enbart R^2 -värdet ha påverkats. Provsetet analyserades också uppdelat i kategorierna < 25 % baljväxter, 25-50% baljväxter, >50% baljväxter för att undersöka om den uteblivna förbättringen vid förlängd inkubation och ND-behandling berodde på att skilda nedbrytningsegenskaper hos fiber i gräs respektive baljväxter accentuerades mer. Resultaten tyder dock inte på det, för delsetet med 25-50% baljväxter blev anpassningen till *in sacco*-resultaten marginellt bättre med 192 h inkubation och ND-behandling, medan det var tvärtom för de båda andra delseten. Vid en uppdelning av proverna efter iNDF-koncentration hade proverna <100 g iNDF/kg OM likvärdiga resultat för regressioner mot VOS-rest respektive mot 192 h inkubation med ND-behandling, RMSE 11.5 g och R^2 0.67. För prover >100 g iNDF/kg OM försämrades prediktionen vid 192 h inkubation med ND-behandling, RMSE och R^2 var 20.1 g och 0.63, jämfört med 14.9 g och 0.80 för regression mot VOS-rest.

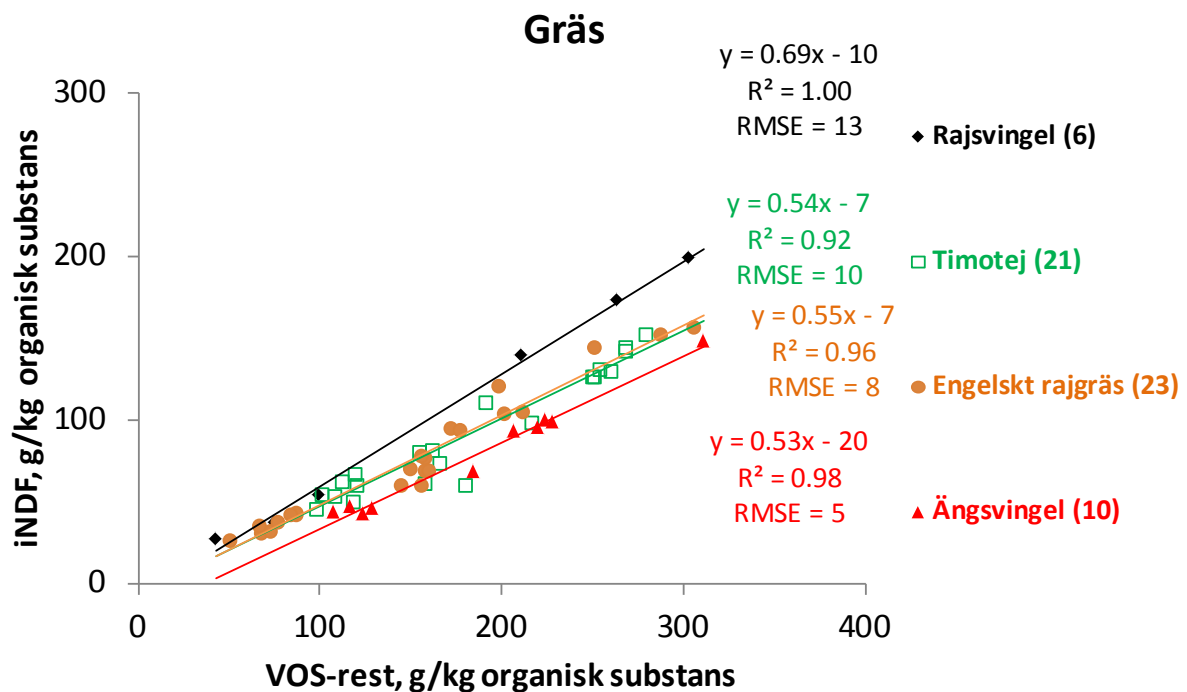
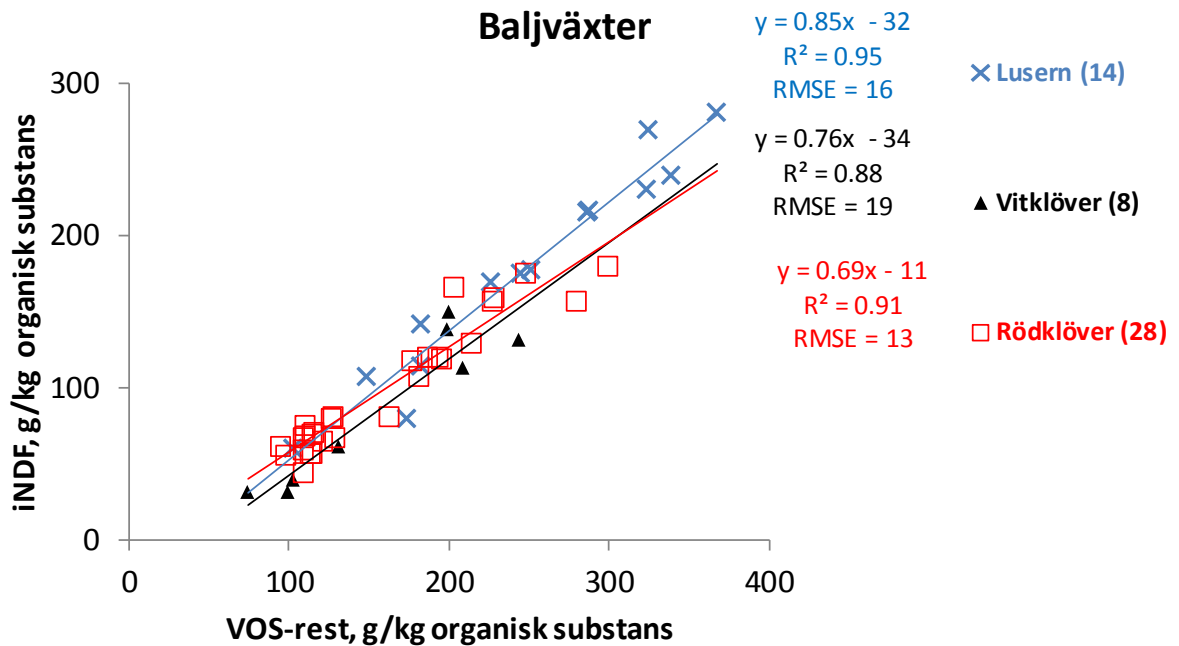
Tabell 1. Regressioner för referensmetoden iNDF *in sacco* mot VOS-rest respektive rest från 192 h *in vitro*-inkubation följt av behandling med neutral detergent (ND) -lösning.

	Alla prover	Kraftfoder	Helsäd	Majs	Vall	Vall med 192 h <i>in vitro</i> -resultat
Antal ^a	476	37	29	29	380	273
iNDF, g/kg OS						
Medel	89	81	152	82	85	78
Stdav.	49	76	39	18	43	37
Min	-2	-2	66	50	23	23
Max	321	321	203	125	280	266
NDF, g/kg OS ^b						
Medel	439	275	521	401	456	451
Stdav.	103	149	48	59	81	79
Min	89	89	436	296	239	239
Max	701	701	614	547	674	648
VOS-rest, g/kg OS						
Medel	159	162	254	157	151	141
Stdav.	75	130	62	32	64	56
Min	-5	-5	160	89	39	39
Max	541	541	382	247	427	427
Regression iNDF mot VOS-rest						
Intercept, g kg/OS	-7.4	-9.6	22.0	21.3	-9.7	-8.2
SE intercept	1.88	5.50	17.78	12.71	2.17	2.41
Lutning	0.61	0.56	0.51	0.39	0.63	0.61
SE lutning	0.01	0.03	0.07	0.08	0.01	0.02
R ²	0.87	0.93	0.68	0.47	0.86	0.84
RMSE, g kg/OS	17.6	20.7	22.4	13.6	16.5	14.7
RMSE, gem. regr. ^c	17.6	24.2	23.8	16.7	16.5	
Regression iNDF mot 192 h <i>in vitro</i> iNDF						
Intercept, g kg/OS						-12.2
SE intercept						2.84
Lutning						0.72
SE lutning						0.02
R ²						0.81
RMSE, g kg/OS						16.3

^aEtt halmprov ingår i ”Alla prover”

^bNDF-värden tillgängliga för 414 av de 476 proverna

^cRMSE för varje provkategori när den gemensamma regressionen tillämpas. Beräknat som (summa kvadrerade residualer)/(n-2) för respektive provkategori



Figur 1. iNDF *in sacco* mot VOS-rest för renbestånd av baljväxter respektive gräs. Inom parentes antal observationer för varje regression. Gemensam regression för baljväxter: $y = 0.81x - 29$; $R^2 = 0.93$; RMSE = 16 g. Gemensam regression för gräs: $y = 0.56x - 10$; $R^2 = 0.90$; RMSE = 13 g.

Det finns flera faktorer som kan förklara att 192 h inkubation med ND-behandling inte gav förbättrad överensstämmelse med *in sacco*-värden, utan snarare innebar en försämring. Fler moment vid analysen innebär fler källor till variation. Mindre restmängd (brantare lutning för regressionen) innebär också att det relativa felet blir större. För att en längre inkubation skall ge genomslag så krävs att det verkligen finns en andel långsamt nedbrytbar fiber som bryts ned under den utökade inkubationstiden. Effekten av ND-behandling i sig undersöktes i föregående projekt (SLF H0630380; Eriksson, 2008). Där jämfördes olika inkubationstider *in vitro* (96, 192 och 288) med eller utan efterföljande ND-behandling på ett set med 10 vallprover. ND-behandlingen avlägsnade då samma mängd *in vitro*- rest, 38 g/kg OS vid alla inkubationstiderna. Det tyder på att den del som försvann vid ND-behandling snarast var en bias, vars avlägsnande inte nödvändigtvis skulle förbättra anpassningen för en regression

Känslighetsanalys i Norfor

När ensilagens iNDF i en känslighetsanalys varierades i samma storleksordning som standardfelet för regressionen ökade respektive minskade ensilagebehovet med 0.2 kg ts för bibehållen energibalans (Tabell 2, Ändrat behov vid låst kraftfodergiva). Om givorna av både kraftfoder och ensilage tilläts variera i en optimeringslösning ledde sänkt iNDF-innehåll istället till ökad ensilagegiva och sänkt kraftfodergiva. Med ökat iNDF-innehåll skedde motsatt förändring, sänkt ensilagegiva och ökad kraftfodergiva. Foderstaterna i känslighetsanalysen hade en mycket hög ensilageandel och i de flesta fall skulle en variation i iNDF-analysen av den här storleksordningen ha mindre betydelse.

Tabell 2. Förändringar i standardfodervärde och optimeringslösningar när iNDF varierar med 18 (gräs) eller 16 (lusern) g/kg organisk substans hos tre olika ensilage typer. Foderstater för äldre kor och 30 kg ECM optimerade för 100 % energibalans med och utan låst kraftfodergiva.

Ensilage	NDF, g/kg ts	iNDF, g/kg NDF	Ts-giva, kg		Förändring i ensilagens standardfodervärde, ± MJ		Ändring av givor på grund av iNDF-variation, ± kg ts			Ändrat ensilagebehov vid låst kraftfodergiva, ± kg ts
			Ensilage	Kraftfoder Solid 120	NEL8	NEL20	Ensilage	Kraftfoder Solid 120	Totalt	
Gräs										
6-166	452	90	16.69	3.20	0.14	0.08	0.23	0.40	0.17	0.22
Gräs										
6-171	506	222	12.97	8.80	0.13	0.06	0.21	0.10	0.11	0.20
Lusern										
6-89	341	425	14.35	8.42	0.11	0.06	0.16	0.26	0.11	0.23

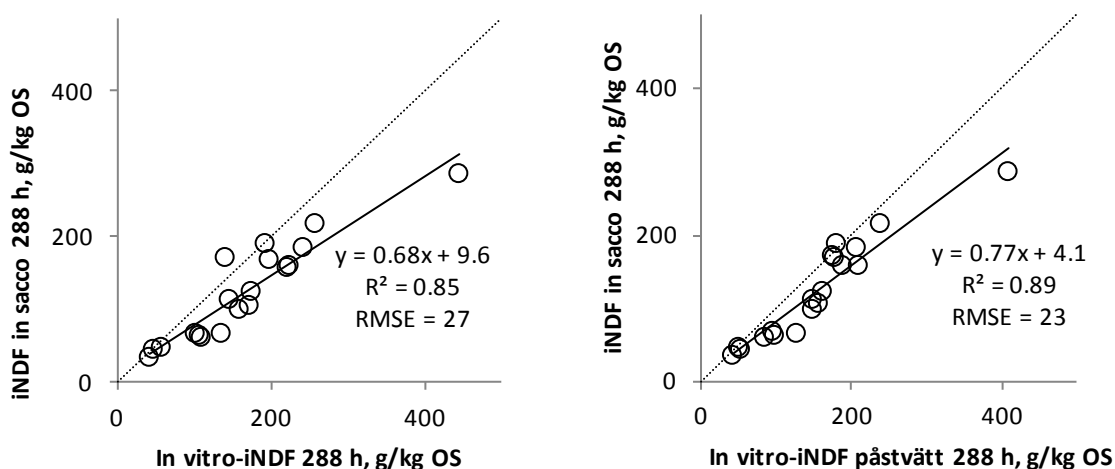
Kolhydrattillsats för ökad nedbrytning in vitro

Med tillsatsen blev pH som lägst 6.8 mot 6.9 utan tillsats. Kolhydrattillsatsen gav en liten numerisk ($P = 0.12$) ökning av nedbrytningen, motsvarande 3 g/kg organisk substans. VOS-värdet var 73.68 utan kolhydrattillsats och 74.02 med tillsats. Hypotetiskt så skulle kolhydrattillsats kunna främja nedbrytningen av fiber genom att en tillräckligt anaerob miljö

bibehålls längre tid i inkubationsröret. Den marginella icke-signifikanta förändringen tyder inte på några möjligheter att nå en ökad *in vitro*-nedbrytning den vägen.

Partikelförluster

De prov som användes för att testa effekten av påstvätt efter inkubationen kännetecknades av stor spridning i fiberns nedbrytningsegenskaper och då även av stor variation kring regressionslinjen mellan olika *in vitro*-metoder och iNDF *in sacco*. Påstvätt gav numeriskt ($P > 0.10$) något bättre överensstämmelse mellan *in sacco*-metoden och *in vitro*-värdena i form av brantare lutning, lägre intercept, högre R^2 och mindre standardavvikelse (Figur 2). Eftersom skillnaderna inte var signifikanta går det inte att dra långtgående slutsatser av dem, men riktningen i alla förändringar är den man kunde förvänta sig om nivåskillnaden mellan *in sacco*-metoden och *in vitro*-bestämningar delvis är en artefakt från partikelförluster vid påstvätt.

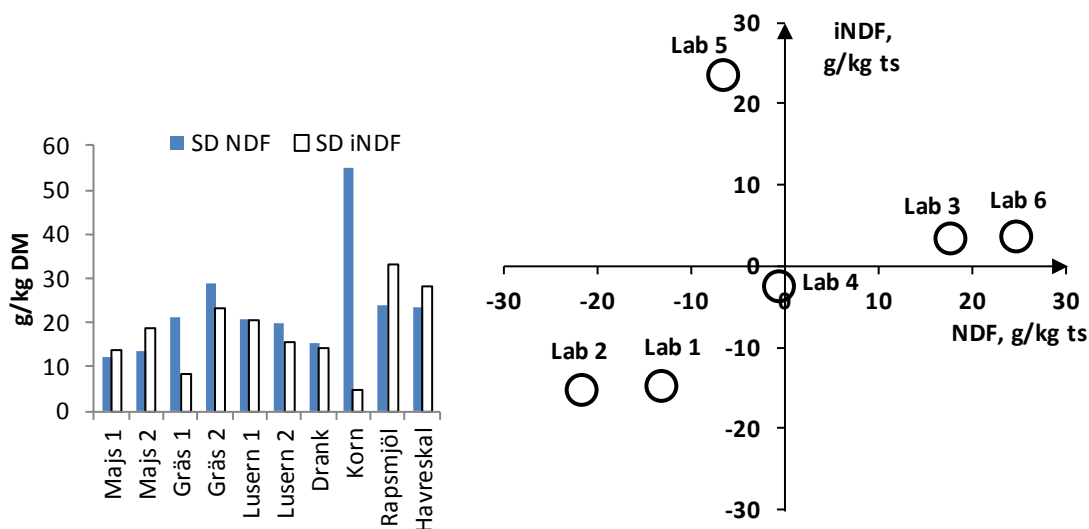


Figur 2. iNDF *in sacco* enligt standardprocedur mot *in vitro*-värden för prov som inkuberats 288 h utan (vänster) eller med (höger) efterföljande påstvätt.

Ringtest

Resultaten av ringtestet har publicerats som konferensbidrag (Eriksson et al., 2012) och behandlas här bara kortfattat. Standardavvikelsen mellan forskningslaboratorierna var i samma storleksordning för både iNDF och NDF, där de enskilda laboratoriernas nivåer av iNDF och NDF tenderade att vara korrelerade ($P = 0.09$) om Lab 5 undantogs (Figur 3). Den nordiska ringtest som gjordes 2004 (Lund et al., 2004) ledde till slutsatsen att de viktigaste orsakerna till skillnader mellan laboratorier var vilka kor som användes för inkubation, skillnader i påstvättrutiner och skillnader i NDF-analys. Typ av inkubationspåsar hade mindre betydelse. I det här rapporterade ringtestet tillkom en variationsorsak genom att laboratorierna malde proverna själva. Likheten i variation för iNDF och NDF inom laboratorium, liksom tendensen till

korrelation mellan nivåer av iNDF och NDF tyder på att NDF-analysen är en viktig orsak till både nivåskillnader och variation i iNDF.



Figur 3. Standardavvikelse mellan de sex forskningslaboratorierna för NDF och iNDF hos alla prover (vänster). Nivåskillnad mellan laboratorierna som avvikelse från gemensamt medelvärde för NDF respektive iNDF (höger).

Metodernas variation

Det är mycket viktigt att komma ihåg att en del av variationen i regressionen mellan iNDF *in sacco* och *in vitro*-metoderna beror på variation inom *in sacco*-metoden. *In sacco*-analysen av iNDF är en empirisk analys som definieras av metoden och inte av att analyten är en absolut storhet. Ett stort antal upprepningar av *in sacco*-analysen för varje prov skulle till sist ge ett tillförlitligt, metoddefinierat referensvärde att jämföra andra analysmetoder med. När bara ett enda *in sacco*-resultat finns tillgängligt, som oftast är fallet, avviker det också från detta ”sanna” referensvärde. Variationen mellan upprepningar var av ungefär samma storleksordning för både *in sacco*- och *in vitro*-metoder (Tabell 3), medan variationen mellan duplikat inom omgång var större för *in vitro*-metoderna. Eftersom *in sacco*-resten (iNDF) är mindre än *in vitro*-resten (lutning 0.61 för den gemensamma regressionen i Tabell 1) så innebär det dock i praktiken att variationen i *in vitro*-metoden multipliceras ner i motsvarande grad när iNDF-värden predikeras från den.

Slutsatser

Koncentrationen av iNDF i ett foderprov kan uppskattas från VOS-analys 96 h med ett standardfel (RMSE) omkring 16.5 g/kg OS för vallprover. I Norfor-modellen motsvarar det ca 0.2 kg ts förändring i dagsbehovet av ensilage för att behålla ett oförändrat energiintag hos en ko som mjölkar 30 kg ECM. Skilda regressioner för gräs och baljväxter minskar felet, framförallt för lusern. För kraftfoder och helsäd blir prediktionsfelet större än för vallprover och för majs mindre. En del av standardfelet i regressionerna beror på variation i *in sacco*-metoden.

Fördubbling av inkubationstiden till 192 h och behandling med ND-lösning ger ingen förbättring jämfört med en regression direkt mot VOS-resultatet.

Tabell 3. Variation mellan upprepningar och inom *in sacco*-/*in vitro*omgång för olika nedbrytningsmetoder vid Kungsängens forskningscentrum och hos ringtestlaboratorier

Metod	Antal prov	Upprepningar	N	Enhet	Spann	Medelv.	SD upprepn.	SD kor/ in vitro-rör
iNDF <i>in sacco</i> Kungsängens laboratorium	20	2 - 3 upprepningar över tid	45	g iNDF/ kg OS	48 - 295	109	8.8	2.3
iNDF <i>in sacco</i> Ringtest 2012	10	6 laboratorier	60	g iNDF/ kg ts	32 - 325	134	13.6	-
iNDF <i>in sacco</i> * Ringtest 2012	10	4 laboratorier	40	g iNDF/ kg ts	32 - 292	127	8.1	1.8
192 h <i>in vitro</i> inkubation	240	Duplikat inom omgång	480	g iNDF/ kg OS	32 - 279	124	-	6.0
96 h VOS	240	Duplikat inom omgång	480	g OS-rest/ kg OS	36 - 324	138	-	7.9
96 h VOS	1	91 upprepningar över tid	91	g OS-rest/ kg OS	142 - 189	167	9.2	-

* Enbart de 4 laboratorier som gjort referensanalyserna för Norfors provbank.

Resultatspridning

Resultat har presenterats för Norfor's Scientific Advisory Group vid möten 30 nov 2011 i Uppsala, 7 nov 2012 i Oslo och 2 april 2014 i Köpenhamn. Resultat har också publicerats i konferensrapport (Eriksson et al., 2012) och i Svenska Vallbrev. Vetenskaplig publicering pågår.

Referenser

- Eriksson, T., Kriszan, S. J., Volden, H., Eiriksson, T., Jalava, T., Nissen, H., Eriksen, C., Brohede, L., Vedder, H. & Weisbjerg, M. R. 2012. Nordic ringtest on iNDF and NDF contents of ten feed samples. The 3rd Nordic Feed Science Conference, Uppsala, Sweden, 28-29 of June 2012. SLU/HUV Report 280, p 13-18.
- Lindgren, E. 1979. Vallfodrets näringsvärde bestämt *in vivo* och med olika laboratoriemetoder. Rapport 45. Inst. för husdjurens utfodring och vård, SLU, Uppsala.
- Lund, P., Weisbjerg, M.R., Ahvenjärvi, S., Huhtanen, P., Uden, P., Olafsson, B., Volden, H., 2004. Nordic ringtest on INDF content and NDF degradation characteristics in three feeds. Journal of Animal and Feed Sciences 13, 139-142.