

Pflanzen

Die Bestimmung der Verdaulichkeit von Futterpflanzen

Franz Xaver Schubiger und Josef Lehmann, Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau, Reckenholz (FAL), CH-8046 Zürich

Roger Daccord und Yves Arrigo, Eidgenössische Forschungsanstalt für Nutztiere (RAP), CH-1725 Posieux

Bernard Jeangros und Jan Scehovic, Eidgenössische Forschungsanstalt für Pflanzenbau (RAC), Changins, CH-1260 Nyon 1

Auskünfte: Franz Xaver Schubiger, e-mail: franz.schubiger@fal.admin.ch, Fax +41(0)1 377 72 01, Tel. +41(0)1 377 73 33

Zusammenfassung

Die Verdaulichkeit der organischen Substanz (vOS) kann im Labor (*in vitro*) mit verschiedenen Methoden bestimmt werden: einerseits durch Verdauung der Futterprobe mit Pansensaft oder mit Enzymen, andererseits mittels Schätzung auf Grund der chemischen Zusammensetzung. In diesem Artikel zeigen wir, ob die mit vier verschiedenen Labormethoden bestimmte Verdaulichkeit mit derjenigen, welche in Tierfütterungsversuchen (*in vivo*) bestimmt wurde, übereinstimmt. Die mikrobiologische Methode (Verdauung des Futters mit Pansensaft) schätzte den *In-vivo*-Wert am besten. Die Berechnung der vOS mit Hilfe des Gehaltes an Zellwandbestandteilen und sekundären Inhaltsstoffen stimmte ebenfalls gut mit der *In-vivo*-Verdaulichkeit überein. Die Verwendung von Enzymen, an Stelle von Pansensaft, ergab die schlechteste Übereinstimmung.

Abb. 1. Bei der mikrobiologischen Methode wird die Futterprobe zuerst mit Pansensaft und anschliessend mit einer Pepsin-Salzsäure-Lösung verdaut. (Foto: Gabriela Brändle, FAL)



Die Verdaulichkeit der organischen Substanz von Raufutter kann im Tierfütterungsversuch (*in vivo*) ermittelt werden. Diese Methode ergibt eine exakt bestimmte Verdaulichkeit, sie ist aber aufwändig und für grosse Zahlen von Futterproben nicht geeignet. In der Literatur werden daher zahlreiche Methoden vorgeschlagen, die Verdaulichkeit im Labor (*in vitro*) zu bestimmen. Unter diesen Methoden ist die sogenannte 2-Stufen-Methode nach Tilley und Terry (1963) gut eingeführt. Allerdings benötigt man dazu Pansensaft von Spendertieren, was den Anwendungsbereich dieser Methode stark einschränkt. Der Hohenheimer Futterwerttest (Menke *et al.* 1979) basiert ebenfalls auf einer Verdauung der Futterprobe mit Pansensaft. Gemessen wird nicht die Endpunkt-Verdauung, wie bei der 2-Stufen-Methode, sondern die Gasbildung während der Verdauung. Damit erhält man Informationen über die Kinetik der Verdauung.

Verschiedentlich wurde vorgeschlagen, den Pansensaft durch das kommerziell erhältliche Enzym Cellulase zu ersetzen (Jarrige *et al.* 1970; Jones und Hayward 1973; De Boever *et al.* 1986). Auch wurde versucht, Regressionsgleichungen zu entwickeln, welche auf Grund der chemischen Zusammensetzung der Futterprobe die Verdaulichkeit schätzen (Van Soest 1994). Die Nah-Infrarot-Reflexions-Spektroskopie (NIRS) ist eine weitere Labormethode, mit der sehr schnell eine grosse Zahl Proben zuverlässig und kostengünstig analysiert werden können (Norris *et al.* 1976). Diese Methode bietet ausserdem den Vorteil, dass in einem Analysengang gleichzeitig mehrere Merkmale bestimmt werden können. Die NIRS-Methode muss mit einer anderen Labormethode geeicht werden. Die Zuverlässigkeit der Analysendaten ist deshalb direkt von der verwendeten Eichmethode abhängig.

Eine effiziente Labormethode muss reproduzierbare Resultate liefern und gleichzeitig sollten die Analysenwerte gut mit den *In-vivo*-Werten übereinstimmen. In der vorliegenden Arbeit prüften wir, ob die in der Schweiz verwendeten Labormethoden ähnliche Resultate liefern und ob sie mit den in Tierfütterungsversuchen ermittelten Werten übereinstimmen.

Bestimmung der Verdaulichkeit

In einem Fütterungsversuch mit Schafen wurde die Verdaulich-

keit der organischen Substanz (vOS) von insgesamt 35 Futterproben von Englischem Raigras, Knaulgras und Weissklee bestimmt. Das Futter stammte aus Grossparzellen, die 1995 in Posieux angelegt wurden (Jeangros *et al.* 2001). Während zweier Jahre wurde während des ersten, dritten und vierten Aufwuchses (Weissklee 1997: 5. Aufwuchs) zu verschiedenen Zeitpunkten eine grössere Menge Futter geerntet und bei -20 °C eingefroren (1996: 21 Proben) beziehungsweise bei 30 °C getrocknet (1997: 13 Proben; eine Probe zusätzlich auch eingefroren). Unmittelbar vor der Konservierung wurde jeweils aus dem frischen Erntematerial (Grünfutter) je eine Stichprobe für die Laboruntersuchung entnommen, bei 60 °C getrocknet und mit einer Brabendermühle (1 mm Sieb) gemahlen. Während der *In-vivo*-Verdaulichkeitsuntersuchung wurde vom konservierten Futter (gefroren oder getrocknet) nochmals je eine Stichprobe entnommen und auf die oben beschriebene Art für die Laboruntersuchungen vorbereitet. Die vOS dieser total 69 Proben wurde im Labor mit vier verschiedenen Methoden bestimmt:

mikrobiologische Methode nach Tilley und Terry (1963): Die Futterprobe wird zuerst mit Pansensaft (Abb. 1) und anschliessend mit einer Pepsin-Salzsäure-Lösung verdaut (2-Stufen-Methode). Anschliessend wird die unverdaute organische Substanz erfasst.

enzymatische Methode nach De Boever *et al.* (1986): Die Probe wird mit einer Pepsin-Salzsäure-Lösung und anschliessend mit einer Cellulaselösung behandelt. Der nicht lösliche Anteil der organischen Substanz wird bestimmt und die Verdaulichkeit wird unter Berücksichtigung der Gehalte an Trockensubstanz und Rohasche berechnet.

Tab. 1. Vergleich der *in vivo* Verdaulichkeit der organischen Substanz mit den Resultaten der verschiedenen Labormethoden

Methode	Anzahl Proben	Mittel %	Max. %	Min. %	R ²	SS %
Futterprobe nach der Konservierung						
<i>In vivo</i> (Schafe)	35	76,8	83,5	65,8		
Mikrobiologisch	35	77,6	86,5	67,8	0,80	2,1
Enzymatisch	35	73,4	83,6	55,4	0,53	3,4
Chemisch (L)	35	75,2	82,3	66,7	0,72	2,6
Chemisch (IANP)	35	78,5	88,6	65,1	0,79	2,3
vor der Konservierung entnommene Proben						
Mikrobiologisch	34	77,7	86,1	67,9	0,82	2,1
Enzymatisch	34	74,1	83,4	62,6	0,49	3,5
Chemisch (L)	34	74,6	81,8	66,2	0,65	2,9
Chemisch (IANP)	34	77,7	88,1	64,3	0,70	2,7
alle Futterproben						
<i>In vivo</i> (Schafe)	35	76,8	83,5	65,8		
Mikrobiologisch	69	77,6	86,5	67,8	0,81	2,1
Enzymatisch	69	73,8	83,6	55,4	0,50	3,4
Chemisch (L)	69	74,9	82,3	66,2	0,68	2,7
Chemisch (IANP)	69	78,1	88,6	64,3	0,74	2,5

R² = Bestimmtheitsmass für die Schätzung der *In-vivo*-Werte

SS = Standardfehler für die Schätzwerte der vOS

chemische Methoden nach Sechovic (1991 und 1995): Die Verdaulichkeit der organischen Substanz wird mit Hilfe der chemischen Zusammensetzung des Futters berechnet. Die erste multiple Regressionsgleichung (chemische Methode L) berücksichtigt die Lignozellulose, das Lignin, die Zellulose und mit der Zellwand veresterte Phenole. Bei der zweiten Berechnungsart (chemische Methode IANP) wird die vOS-L mit einem Index (IANP) korrigiert. Dieser Index bewertet eine mögliche negative Wirkung von sekundären Inhaltsstoffen.

Die *in vivo* Verdaulichkeitsuntersuchung erfolgte an der RAP in Posieux gemäss der Standardmethode (Daccord und Schneeberger, 1986). Jede Futterprobe wurde an vier Schafe verfüttert. Die Verdaulichkeit wurde durch Erfassen der verzehrten Futtermenge und des ausgeschiedenen Kotes während 2 mal 4 Tagen nach

einer dreiwöchigen Anpassungsphase bestimmt.

Vergleich der Labormethoden

Die Resultate der vier Labormethoden stimmen mehr oder weniger gut mit den *In-vivo*-Werten überein (Tab. 1). Die Abbildungen 2 bis 5 zeigen den Vergleich zwischen der im Fütterungsversuch bestimmten Verdaulichkeit und derjenigen, welche mit einer der vier Labormethoden analysiert wurde.

Betrachtet man alle Proben zusammen (in frischem Zustand entnommene und konservierte Futterproben), zeigte die mikrobiologische Methode die beste Übereinstimmung mit den *In-vivo*-Werten (R² = 0,81, Standardfehler des Schätzwertes (SS) = 2,1 %). Die beiden chemischen Methoden lieferten ebenfalls ähnliche Resultate, wie die *In-vivo*-Erhebungen. Auffallend war, dass der Einbezug der

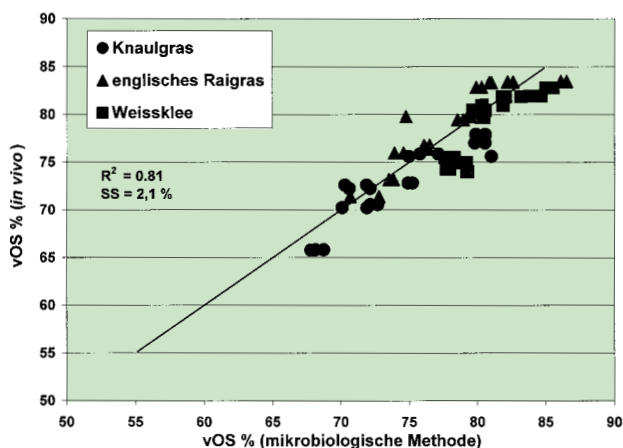


Abb. 2. Vergleich der im Fütterungsversuch ermittelten Verdaulichkeit (*in vivo*) mit der Verdaulichkeit, welche mit der mikrobiologischen Methode bestimmt wurde (alle Proben, n=69). (R^2 = Bestimmtheitsmass für die Schätzung der *In-vivo*-Werte; SS = Standardfehler für die Schätzwerte; Hilfsgerade: $y = x$).

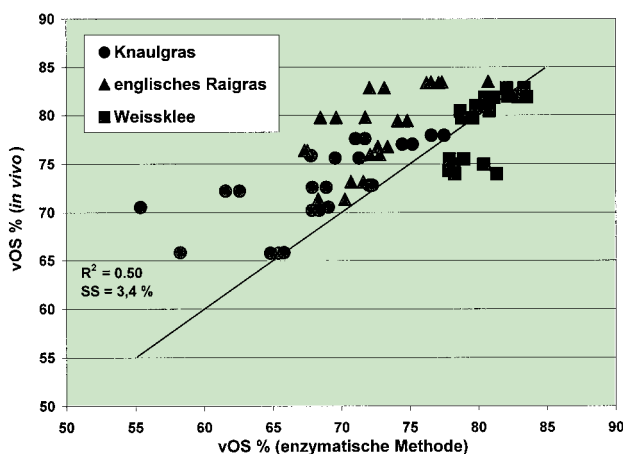


Abb. 3. Vergleich der im Fütterungsversuch ermittelten Verdaulichkeit (*in vivo*) mit der Verdaulichkeit, welche mit der enzymatischen Methode bestimmt wurde (alle Proben, n=69; Legende siehe Abb. 2; Hilfsgerade: $y = x$).

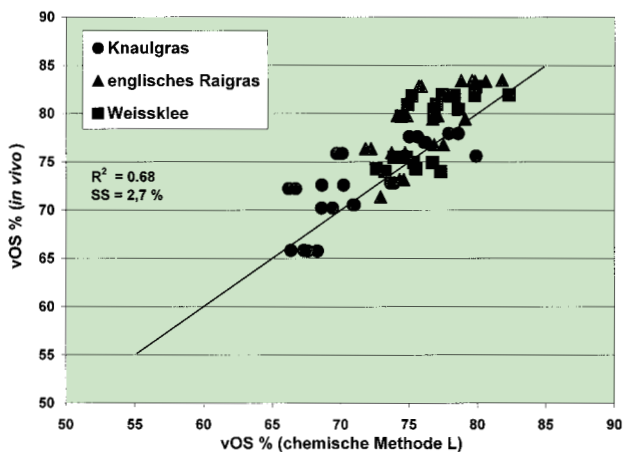


Abb. 4. Vergleich der im Fütterungsversuch ermittelten Verdaulichkeit (*in vivo*) mit der Verdaulichkeit, welche mit der chemischen Methode L bestimmt wurde (alle Proben, n=69; Legende siehe Abb. 2; Hilfsgerade: $y = x$).

IANP-Indizes eine deutliche Verbesserung des R^2 gegenüber der chemischen Methode L brachte. Am schlechtesten wurde die vOS durch die enzymatische Methode geschätzt.

Die Rangfolge der vier Methoden in der Übereinstimmung mit den *In-vivo*-Werten bleibt gleich, auch wenn nur die als Grünfütter oder die als konserviertes Futter untersuchten Proben betrachtet werden.

Die mikrobiologische Methode lieferte vOS Werte, die im Mittel 0,8 % höher lagen als der mittlere *In-vivo*-Wert, diejenigen der IANP Methode waren 1,3 % höher. Die L und die enzymatische Methode unterschätzten hingegen die vOS im Vergleich zu den *In-vivo*-Werten (-1,9 % beziehungsweise -3,0 %).

Die vOS der Gräser wurde durch die enzymatische Methode unterschätzt, während die Werte des Weisskleees besser mit den *In-vivo*-Werten übereinstimmten. Die Methode IANP lieferte einen vOS Bereich der weiter war als derjenige der Methode L. Proben mit einer hohen vOS wurden dabei eher überschätzt, Proben mit einer tiefen vOS eher unterschätzt im Vergleich zu den *In-vivo*-Werten.

Wie erwartet korrelierten die beiden chemischen Methoden am besten miteinander (Korrelationskoeffizient $r = 0,99$). Am schlechtesten stimmten die Resultate der chemischen mit denjenigen der enzymatischen Methode überein ($r = 0,76$ und $0,78$). Die Beziehung der mikrobiologischen Methode zu den chemischen Methoden war besser ($r = 0,89$ und $0,88$) als zu der enzymatischen Methode ($r = 0,82$).

Die schlechte Übereinstimmung der enzymatischen Methode mit den *In-vivo*-Werten erstaunt. In vielen Arbeiten wird von hohen

Korrelationen zwischen diesen beiden Methoden berichtet (z.B. Jones und Hayward 1973; De Boever *et al.* 1986). Nach Literaturangaben ist vor allem bei stärkehaltigen Futtermitteln die enzymatische der mikrobiologischen Methode überlegen.

Einfluss der Konservierung

Die Verdaulichkeit der eingefrorenen Proben wurde im Durchschnitt von den vier Labormethoden höher eingeschätzt als diejenige des Grünfutters (0,1 bis 0,5 %). Die vOS der durch Trocknung bei 30 °C konservierten Proben wurde hingegen von der mikrobiologischen und der enzymatischen Methode 0,8 % beziehungsweise 2 % tiefer eingestuft. Die beiden chemischen Methoden bewerteten diese im Mittel mit 1,2 und 1,3 % besser.

Eine Probe von englischem Raigras wurde auf beide Arten konserviert. Alle vier Labormethoden analysierten eine höhere Verdaulichkeit bei der eingefrorenen Probe und eine tiefere bei der getrockneten Probe im Vergleich zu der im frischen Zustand entnommenen Probe. Der *In-vivo*-Wert der beiden konservierten Proben war gleich.

Folgerung

Die mikrobiologische Methode schätzte die im Tierfütterungsversuch (*in vivo*) ermittelte Verdaulichkeit von Raufutter am besten. Da für diese Methode Pansensaft benötigt wird, ist sie nicht überall anwendbar. Die vOS mit einer Regressionsgleichung zu berechnen, ist eine geeignete Alternative. Grundlage für die Berechnung der Regression kann der Gehalt an Zellwandbestandteilen, an Rohfaser oder an sekundären Inhaltsstoffen sein. Der Einbezug von zusätzlichen Inhaltsstoffen verteuert allerdings die Methode. Wesentlich kostengünstiger ist die NIR-Spektroskopie. Sie muss

allerdings mit einer anderen Labormethode geeicht werden. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die mikrobiologische Methode nach Tilley und Terry (1963) sich dazu eignet. Richtig kalibriert, kann die NIRS die Verdaulichkeit sehr genau schätzen (Schubiger *et al.* 1999).

Literatur

- Daccord R. and Schneeberger H., 1986. Variability and repeatability of digestibility evaluated on sheep. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* **56**, 35 - 41.
- De Boever J.L., Cottyn B.G., Buysse F.X., Wainman F.W. and Vanacker J.M., 1986. The use of an enzymatic technique to predict digestibility, metabolizable and net energy of compound feedstuffs for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* **14**, 203-214.
- Jarrige R., Thivand P. and Demarquilly C., 1970. Development of a cellulolytic digestion for predicting the nutritive value of forages. *Proc. XI. Int. Grassland Congress*, (Surfers Paradise, Aust.), 762-766.
- Jeangros B., Scehovic J., Schubiger F. X., Lehmann J., Daccord R.

und Arrigo Y., 2001. Nährwert von Wiesenpflanzen: Trockensubstanz, Rohprotein- und Zuckergehalte. *Agrarforschung* **8** (2), 78-86.

- Jones D.I. and Hayward M.V., 1973. A cellulase digestion technique for predicting the dry matter digestibility of grasses. *J. Sci. Food Agric.* **24**, 1419-1426.
- Menke K.H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. and Schneider W., 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *J. Agric. Sci.* **93**, 217-222.
- Norris K.H., Barnes R.F., Moore J.E. and Shenk J.S., 1976. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *J. Animal Sci.* **43**, 889-897.
- Scehovic, J., 1991. Considérations sur la composition chimique dans l'évaluation de la qualité des fourrages des prairies naturelles. *Revue Suisse Agric.* **23** (5), 305-310.
- Scehovic, J., 1995. Pourquoi et comment tenir compte des métabolites secondaires dans l'évaluation de la qualité des fourrages? *Revue suisse Agric.* **27** (5), 297-301.

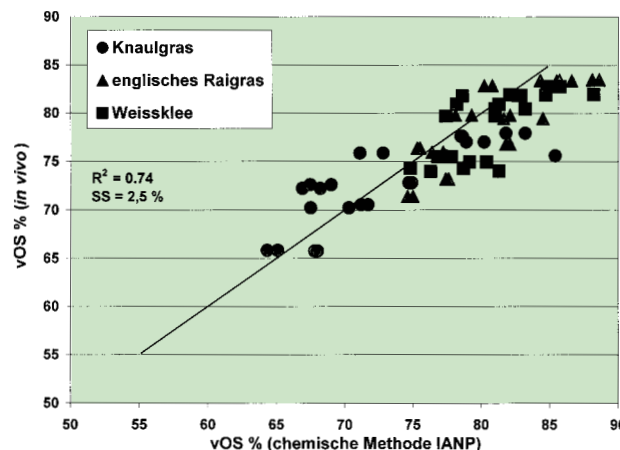


Abb. 5. Vergleich der im Fütterungsversuch ermittelten Verdaulichkeit (*in vivo*) mit der Verdaulichkeit, welche mit der chemischen Methode IANP bestimmt wurde (alle Proben, n=69) (Legende siehe Abb. 2; Hilfsgerade: $y = x$).

- Schubiger F.X., Bosshard H.R., Briner H. und Lehmann J., 1999. Einfluss der Nutzung von Wiesen auf die Futterqualität. *Agrarforschung* **6** (4), 133-136.
- Tilley J. and Terry R., 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Brit. Grassland Soc.* **18**, 104-111.
- Van Soest P.J., 1994. Nutritional Ecology of Ruminants, 2nd edn. *Cornell University Press*, 476 S.

RÉSUMÉ

Détermination de la digestibilité des plantes fourragères

La digestibilité de la matière organique (dMO) peut être déterminée par différentes méthodes de laboratoire (analyses *in vitro*): incubation des échantillons dans du jus de panse ou dans une solution d'enzymes ou encore estimation à partir de la composition chimique. Dans cet article, les valeurs de digestibilité *in vitro* - lesquelles ont été déterminées à l'aide de quatre méthodes différentes - ont été comparées aux digestibilités obtenues lors d'essais d'alimentation avec des animaux (méthode *in vivo*) afin d'évaluer la précision des méthodes de laboratoire. La méthode microbiologique (incubation dans du jus de panse) est celle qui a permis d'estimer les valeurs *in vivo* avec la plus grande précision. La détermination de la dMO par calcul à partir des teneurs en constituants pariétaux et en métabolites secondaires a également donné de bons résultats. La méthode enzymatique (utilisation d'enzymes à la place de jus de panse) est celle qui a donné les moins bons résultats.

SUMMARY

Comparison of laboratory methods for determining forage digestibility

Digestibility of the organic matter of forage can be estimated by different laboratory methods (*in vitro*): digestion with rumen fluid or with cell-free fungal cellulase, development of regression equations to predict digestibility from chemical composition. The objective of this article was to compare the *in vitro* digestibility of four different laboratory methods with the digestibility, which has been determined with sheep (*in vivo*). Digestibility, measured by the technique using rumen fluid, correlated best with the *in vivo* digestibility. Established equations for the prediction of the digestibility using the content of cell wall and phenolic compounds were also comparable with *in vivo* digestibility. The replacement of rumen fluid by cellulase corresponded less with the *in vivo* digestibility.

Key words: *in vivo* digestibility, *in vitro* digestibility, laboratory methods