

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



Tasa de Degradación *In Vitro* de la Fibra
de Algunos Forrajes de Uso Común

Por:

CAMELIA CRUZ RODRÍGUEZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

Ingeniero Agrónomo Zootecnista

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Mayo de 1999

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL

Tasa de Degradación *in vitro* de la Fibra
de Algunos Forrajes de Uso Común

Por:

CAMELIA CRUZ RODRÍGUEZ

TESIS

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como
requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

APROBADA

MC. J. EDUARDO GARCÍA MARTÍNEZ
Presidente del Jurado

MC. RAMÓN F. GARCÍA CASTILLO
Sinodal

MC. REGINO MORONES REZA
Sinodal

El Coordinador de la División de Ciencia Animal

Dr. Carlos J. De Luna Villarreal

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Mayo de 1999

DEDICATORIA

A mi hija Karina, quien me inspira a superarme cada día.

AGRADECIMIENTOS

A los miembros del Comité de Asesoría: **Ing. J. Eduardo García Martínez, Ing. Ramón García Castillo e Ing. Regino Morones Reza** por su asesoramiento y dedicación en la

realización del presente trabajo, a todos ellos mi más sincero agradecimiento.

A mi "**Alma Mater**" por ser tan bondadosa conmigo y por brindarme la oportunidad de prepararme profesionalmente.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	pag.
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Técnicas De Muestreo En Forrajes.....	4
Forrajes Frescos.....	5
Ensilados.....	6
Henificados.....	7
Importancia De Conocer La Digestibilidad De Los Forrajes.....	8
Técnicas Para Medir La Digestibilidad De Los Forrajes.....	10
Digestibilidad <i>In Vivo</i>	11
Digestibilidad <i>In Situ</i>	11
Digestibilidad <i>In Vitro</i>	13

Análisis De Forraje Mediante El Sistema De
Fracciones De Fibra..... 14

La Técnica *In Vitro* Para Determinar La
Cinética De i¥Á`I`”

... • $\frac{1}{2}$...

J ····· J ····· ·····
··· 8 ··· 6 ··· L i A I ···

····· p

····· p

····· p

• $\frac{1}{2}$

.....].....p.....p.....p.....p.....J.....

\J·\····\J·\·····\p \····\p \····\p

8. CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN.....	24
5. CONCLUSIONES.....	34
6. RESUMEN.....	35
7. LITERATURA CITADA.....	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	pag.
3.1. Composición bromatológica y fibra en detergente neutro de los forrajes estudiados.....	20
4.1. Tasa de degradación de la fibra de los forrajes estudiados.....	27
4.2. Porcentaje de fibra potencialmente indigestible de los forrajes estudiados a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	30
4.3. Porcentaje de fibra potencialmente digestible de los forrajes estudiados a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	30
4.4. Digestibilidad de las paredes celulares de los forrajes estudiados a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	pag.
4.1. Fibra potencialmente digestible residual del heno de alfalfa a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	24
4.2. Fibra potencialmente digestible residual del ensilado de maíz a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	25
4.3. Fibra potencialmente digestible residual de la paja de sorgo a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	25
4.4. Relación entre el contenido de fibra en detergente neutro de los forrajes y su tasa de degradación de las paredes celulares.....	28
4.5. Digestibilidad de la fibra en detergente neutro del heno de alfalfa a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	32
4.6. Digestibilidad de la fibra en detergente neutro del ensilado de maíz a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	33
4.7. Digestibilidad de la fibra en detergente neutro de la paja de sorgo a diferentes tiempos de incubación <i>in vitro</i>	33

1. INTRODUCCIÓN

Los forrajes constituyen una parte substancial de la dieta de los rumiantes, siendo muy importantes en el caso del ganado lechero especializado, llegando a constituir hasta el 75 % de la ración de estos animales, aunque esta cantidad varía dependiendo de su estado productivo. Esto implica la utilización de un espacio valioso en el volumen gastrointestinal y en el de los nutrientes requeridos por los animales (Herrera, 1993). La calidad de los forrajes que se emplean en la alimentación tienen por lo tanto un fuerte impacto en la producción de las vacas, especialmente en la producción de leche.

En el caso particular de la lechería en México, existen graves problemas de abasto de forrajes de buena calidad durante la época seca; lo cual, aunado a las condiciones climáticas adversas provocan una severa disminución en la producción de leche, en la condición corporal, en la reproducción y por lo tanto en el ingreso económico del productor. El grado de afectación dependerá

de la cantidad, pero sobretodo de la calidad del forraje disponible que consuman los animales. Por lo tanto el análisis de la calidad de los forrajes es un aspecto de gran importancia para la producción, ya que tales estimaciones son requeridas para planear el uso más adecuado de los forrajes al momento de realizar los programas de alimentación.

La digestibilidad es uno de los más importantes factores que determinan la calidad de los forrajes (Horton *et al.*, 1980). Por tal razón es muy común realizar pruebas de digestibilidad, sin embargo, se ha encontrado que el consumo voluntario de los forrajes es aún más importante que la digestibilidad de sus nutrientes, pero ambos están altamente relacionados con el consumo total de material digestible (Smith *et al.*, 1970).

La mejor medida del valor nutritivo de los forrajes es la productividad del animal. Ésta es el resultado del consumo, digestión y eficiencia en la utilización de los nutrientes absorbidos; por lo que, el total de nutrientes consumidos y la digestibilidad están altamente relacionados, pero el consumo aparece como la limitante más importante en la productividad que la digestibilidad (Smith *et al.*, 1972).

La relación entre la solubilidad o insolubilidad de la materia seca de los forrajes y el consumo voluntario esta bien establecida (Donefer *et al.*, 1960). En cuanto a esto, Gill *et al.* (1969) observaron que el consumo de materia seca digestible está relacionado con la tasa de desaparición de celulosa digestible. Smith *et al.*, (1970) reportaron que la solubilidad de la materia seca de los forrajes no contribuye directamente a incrementar las tasas de digestión de la pared celular. La tasa de pasaje de la porción indigerida de los residuos potencialmente digestibles e indigestibles así como la tasa de digestión de la fracción potencialmente digestible son factores involucrados en el consumo voluntario (Smith *et al.*, 1970).

Desde hace tiempo, en trabajos de digestibilidad *in vitro* se ha tratado de estimar la digestión *in vivo*. Deinum *et al.* (1968) observaron que la digestibilidad de la pared celular *in vitro* fue el más preciso de algunos métodos de laboratorio para predecir la digestibilidad *in vivo*. Recientemente se ha demostrado que el examinar la cinética de la digestión de la pared celular puede ayudar a sugerir métodos con los cuales las fuentes dietarias de fibra pueden ser más eficientemente utilizadas para mejorar la producción de los rumiantes.

Por todo lo anterior, se planteó el presente trabajo cuyo objetivo principal fue determinar la tasa de digestión (kd) de la pared celular (FDN) de algunos forrajes de uso común mediante la técnica *in vitro*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2. 1. Técnicas de Muestreo en Forrajes

Para que un forraje sea muestreado correctamente, es necesario conocer el objetivo de la investigación a realizar, así como conocer los parámetros que se van a evaluar (Tejada y Carrasco, 1990). En los forrajes son muchas las variables que influyen para una buena calidad, entre los principales tenemos: origen genético, estado fenológico de la planta, tipo de suelo, condiciones atmosféricas, prácticas de manejo, etc (Hughes *et al.*, 1981; Tejada y Carrasco, 1990).

Cuando se toman muestras de un forraje, estas deberán tener la siguiente información: 1) Material de que se trata; 2) Nombre común o regional; 3) Nombre científico: género, especie y variedad; y 4) Estado fenológico.

2.1.1. Forrajes Frescos

El muestreo de un pasto en un potrero dependerá de la extensión del mismo. La manera ideal de tomar las muestras es en forma radial, esto es partiendo del centro, el cual lo podemos marcar con un poste y de acuerdo a las dimensiones del potrero se hacen las recolecciones a distancias proporcionales una de otra.

Para fines de alimentación generalmente solo nos interesa conocer la calidad del forraje por lo que con solo tomar una muestra pequeña de cada punto es suficiente. Una vez que hemos colectado las plantas de cada punto, se toman uno o varios "manojos" de plantas, evitando seleccionarlas por alguna característica en común.

Las plantas seleccionadas al azar deberán cortarse de preferencia a la altura que son cortadas por el diente del animal. Por esta regla general se acostumbra cortar un pasto a cinco cm del suelo sin importar para que tipo de estudio se trate, a menos que en el diseño experimental se nos marque una altura.

Cuando se hace un muestreo en plantas a diferentes edades y estado fenológico se debe de tener mucho cuidado de no cortar las mismas plantas que ya fueron muestreadas anteriormente, ya que no serían representativas. Para este estudio se hace una cuadrícula de parcelas.

Una vez obtenida la muestra, dependiendo de la cantidad recolectada y del tipo de análisis que se vaya a efectuar, se realiza la preparación de la misma. Cuando se obtienen varios kilogramos es necesario homogenizarla previamente. Esta operación se hace rápidamente, para que la muestra no pierda humedad ni sufra deterioro. Cuando la muestra se ha subdividido se guarda en una bolsa de papel para su traslado al laboratorio (Tejada y Carrasco, 1990).

2.1.2. Ensilados

La obtención de muestra en un silo es sumamente difícil, ya que dentro de éste no se tiene uniformidad, debido esto a diversos factores tales como el acomodo de material, a la compactación, etc. Y esto provoca que la fermentación y la composición sea diferente en una zona y otra. Si se desea muestrear el contenido total de un silo habrá que tomar las muestras utilizando sondas

cilíndricas similares a las empleadas en el muestreo de suelos.

Cuando el muestreo se hace conforme se va destapando el silo, habrá que tomar muestras de las diferentes capas eliminando únicamente la superior. Se debe tomar parte del centro y de la zona cercana a las paredes de cada capa.

Una vez tomada y homogeneizada la muestra debe colocarse rápidamente en un recipiente cerrado ya que los ensilados contienen sustancias volátiles como alcoholes y ácidos grasos. La muestra obtenida debe compactarse lo mas que se pueda para conservar las condiciones anaeróbicas y evitar cambios en el patrón de fermentación y composición. Ya que fueron empacadas las muestras de silos deben ser congeladas y permanecerán en ese estado hasta que se realice su análisis (Tejada y Carrasco, 1990).

2.1.3. Henificados

El principal inconveniente en el muestreo de forrajes henificados es el volumen y la poca densidad del material, pero tiene la ventaja de que las muestras no necesitan ningún tratamiento para su conservación.

Para los henos, la muestra no se cuarteará, sino que se molerá toda y una vez molida se homogeneizará (Tejada y Carrasco, 1990).

2.2. Importancia de Conocer la Digestibilidad de los Forrajes

En los sistemas actuales de alimentación el ganado es comúnmente alimentado con dietas ricas en granos. La presencia de almidones y azúcares en éstos tiene su efecto, ya que se reduce la digestión de la fibra con lo cual el consumo decrece (Hoover, 1986). Williams *et al.*(1953) observaron que la digestibilidad de la materia seca (DMS) del heno de avena decrecía cuando se adicionaba almidón a la ración de borregos. Usando novillos Burroughs *et al.*(1949) encontraron resultados similares. Estos decrementos en la DMS pueden ser debidos a disminución en la digestibilidad de la fibra de la dieta (MacRae y Armstrong, 1969). Además, en animales alimentados con dietas ricas en forraje el volumen ocupado por éste puede ocasionar una disminución en la digestibilidad y por lo tanto reducir el consumo.

La habilidad de los rumiantes para digerir y utilizar la fibra de las plantas puede ser aprovechada

para transformar esta fuente de energía a leche, carne, etc., por lo que resulta de considerable importancia investigar la forma de mejorar la eficiencia en la utilización de la fibra por los rumiantes domesticados (Fisher *et al.*, 1989). Además, la necesidad de optimizar la producción animal nos obliga a buscar métodos que permitan un mejor balance de las raciones. Hasta ahora la nutrición de no-rumiantes a presentado un mayor avance debido al desconocimiento de los patrones de fermentación ruminal, los cuales modifican la utilización de los nutrientes en el caso de los rumiantes, por lo tanto es conveniente hacer más investigación en este campo y principalmente en cuanto a la calidad de la fibra. Ya que ésta no es un material química, física o nutricionalmente uniforme (Tejada, 1993).

Dado que los rumiantes se alimentan con grandes cantidades de forrajes y en estos la fracción más abundante esta constituida por la fibra, el análisis de los forrajes deberá dirigirse esencialmente a evaluar dicha fracción. Se ha sugerido que el nivel de consumo de un forraje puede ser de gran importancia en la descripción de su valor nutricional, ya que existe una alta correlación (-.76) entre el consumo de MS y el contenido de fibra en detergente neutro (FDN). En algunos trabajos en los que parte del forraje fue reemplazado por grano se confirmó la relación entre FDN y el consumo,

estos resultados sugirieron que el consumo de dietas con más de 65 % de concentrado o con más de 32 % de FDN ocasionan la reducción en la digestibilidad de la fibra (Hoover, 1986).

Trabajando con forrajes tropicales y templados Barton *et al.* (1976) encontraron que la fibra en detergente ácido (FDA) fue menos digestible en las especies templadas, por lo que esto puede ser considerado como un buen estimador de su digestibilidad. También en forrajes templados la lignina puede ser un buen predictor de la digestibilidad. En el caso de los forrajes tropicales la proteína es considerada como el mejor predictor de la digestibilidad, seguida por la FDN y la hemicelulosa.

2.3. Técnicas Para Medir la Digestibilidad de los Forrajes

Los científicos buscando resultados válidos técnica y estadísticamente han desarrollado técnicas para evaluar la digestibilidad de nutrientes por parte de los rumiantes, y así es como surgen las pruebas de digestibilidad ruminal *in vivo*, *in situ* e *in vitro*.

2.3.1. Digestibilidad *in vivo*

Se recomienda utilizar el mismo tipo de animales para los que el alimento está destinado, se pueden utilizar jaulas individuales de madera o metálicas, que permitan la colección de heces. Es esencial que esta prueba tenga un período pre-experimental o de acostumbramiento el cual varía entre 7 y 12 días. Los animales deberán pesarse al inicio y al final de la prueba y desparasitarse antes de iniciar el período de acostumbramiento. Durante éste y en la colección, el alimento se suministra en dos raciones (mañana y tarde) y los residuos no consumidos deben retirarse diariamente, sobre todo bajo condiciones de altas temperaturas. La colección de heces debe empezar dos días después de iniciada la colección de residuos de alimento y continuarse por dos días más, después de finalizada la colección de los mismos. Los residuos de alimento de cada animal deben pesarse diariamente y en una submuestra determinar MS, la cual puede utilizarse para posteriores análisis químicos (Rodríguez y Llamas, 1990).

2.3.2. Digestibilidad *in situ*

Se requiere disponer de rumiantes fistulados a nivel superior y posterior del rumen, con el fin de poder introducir las muestras de alimento o ingrediente a evaluar. Estas muestras de peso y composición conocida por análisis se colocan en bolsas de nylon con porosidad similar a la de los tejidos corporales ya que van a permitir el paso del líquido ruminal para que actúe sobre las muestras. La desaparición se mide en intervalos periódicos, hasta un tiempo aproximado de 96 horas (Llamas y Tejada, 1990). Este tiempo varia y se da para que actúe el líquido ruminal, evaluandose el tiempo y cambio en la composición.

La digestibilidad *in situ* tiene grandes ventajas sobre la *in vitro*, entre las principales es que la digestión se lleva a cabo en el rumen con la participación de microorganismos ruminales en su ecosistema natural. Además, esta técnica resulta más barata que la digestibilidad *in vitro*, sin embargo, su uso para predecir el valor nutritivo de un alimento se ve limitado por una mayor variabilidad y a la dificultad para realizar una estandarización adecuada que permitiera llevarla a cabo en forma similar a la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS).

Otra de las principales ventajas es que proporciona una amplia visión de la degradación de los componentes

nutricionales a través del tiempo; los métodos *in vivo* e *in vitro* solo proporcionan una cifra (Tejada, 1993).

2.3.3. Digestibilidad *in vitro*

El sistema de digestibilidad *in vitro* se basa en su primera etapa; en una fermentación en un sistema cerrado, es decir, los productos de la fermentación no son removidos. La fermentación es producida por microorganismos añadidos en el líquido ruminal utilizado como inóculo. Sin embargo, la fermentación en estas condiciones no refleja de ninguna forma lo que realmente sucede en el rumen, ya que éste es un sistema abierto con condiciones muy especiales, por lo tanto, es incorrecto el término "rumen artificial" para describir esta técnica. En su primera etapa se adiciona una solución amortiguadora con el fin de mantener el pH alrededor de 6.9, (rango 6.7 a 7.0) siendo éstas las condiciones óptimas para que actúen las bacterias ruminales, especialmente las celulolíticas (Llamas y Tejada, 1990).

En la segunda etapa de esta técnica se lleva a cabo una digestión con pepsina en medio ácido, añadiendo HCl. El objetivo principal de esta etapa es eliminar la proteína microbiana existente dejando únicamente la MS no digerida, esta etapa es comparativa con lo que sucede en el abomaso.

Es importante señalar que la DIVMS no considera la digestión intestinal y aún más importante es que en este método no se toma en cuenta la excreción endógena producida en el animal.

2.4. Análisis de los Forrajes Mediante el Sistema de Fracciones de Fibra

Este sistema fue desarrollado por Van Soest *et al.* (1966). Se basa en la separación de los alimentos vegetales en diferentes fracciones o "entidades" de acuerdo a su composición química y valor nutritivo. Estas separaciones se realizan con solubilizaciones mediante el empleo de detergentes y otros reactivos. Este sistema de análisis tiene la desventaja de ser caro, además de que existe relativamente poca información acumulada de análisis realizados, especialmente en nuestro país; sin embargo, el sistema es muy flexible y puede utilizarse en varias secuencias de acuerdo a necesidades específicas (Van Soest, 1982). Se recomienda para analizar a fondo diferencias en la composición de la fibra de los forrajes y su relación con la digestibilidad por los rumiantes, y es especialmente útil en el estudio de la respuesta de esquilmos agrícolas a tratamientos químicos.

La principal separación en este sistema se logra mediante el uso de un detergente en pH neutro. Con ello se obtienen las paredes celulares (FDN), que corresponde a la fibra real de un forraje, y cuya disponibilidad depende en gran parte del grado de lignificación de una planta. Por diferencias se estima el contenido celular que se encuentra libre de lignina y tiene una disponibilidad casi completa para el animal (Van Soest, 1967; Van Soest y Wine, 1967).

La FDN da estructura a una planta y está relacionada negativamente con el consumo de alimento por el animal. Esto se debe a que el proceso de digestión no reduce sensiblemente el volumen de un forraje, ya que no destruye la estructura o esqueleto de la pared celular. Solamente una reducción del tamaño de partícula por la molienda o rumia del forraje, reducirá el volumen del mismo, facilitará el pasaje de alimento al tracto inferior, y de esta manera podrá aumentar el consumo de alimento (Van Soest, 1976).

La determinación de FDA permite la obtención por diferencia de la hemicelulosa, y sirve como paso preliminar para la obtención de la celulosa y la lignina. Esta última está relacionada negativamente con la digestibilidad de un forraje (Morrison, 1979; Van Soest, 1976).

Diversos autores han descrito las diferencias en la composición química de forrajes de clima templado y tropical de manera que hay determinaciones que los describen mejor (Barton *et al.*, 1976). Los estimadores de la digestibilidad de los forrajes templados son la FDA, la cual es menos digestible que en los tropicales, y lignina; y FDN para los forrajes tropicales. Se han encontrado buenas correlaciones entre la FDN y el consumo voluntario, entre más alta sea la FDN menor será el consumo voluntario. La FDA por su parte ha sido asociada con la digestibilidad y la DIVMS con la digestibilidad *in vivo* (Tejada, 1992).

2.5. La Técnica *in vitro* Para Determinar la Cinética de la Digestión de la Fibra de los Forrajes

La técnica de digestión *in vitro* (Tilley y Terry, 1963) generalmente ha sido adoptada, aunque con ciertas modificaciones para monitorear la calidad de los forrajes (Moore y Mott, 1972). Mediante el uso de la primera etapa de la técnica de DIVMS a diferentes horas de fermentación y determinando FDN al residuo, se puede obtener la tasa de digestión de los forrajes (Waldo *et al.*, 1972; Mertens y Loften, 1980; Grant y Mertens, 1992). El entendimiento de la dinámica de la cinética de la digestión nos ayudara

a encontrar caminos en la manipulación de los forrajes para mejorar la dieta y consecuentemente la producción animal (Fisher *et al.*, 1989; Grant y Mertens, 1992).

2.6. Obtención y Manejo del Líquido Ruminal

El líquido ruminal deberá obtenerse de dos novillos o borregos fistulados, tratando de tomar partes iguales de ellos. Estos animales deberán ser adaptados a una dieta con el 100 % de alfalfa henificada de buena calidad más sal mineralizada a libertad. Se recomienda la alfalfa por ser el alimento más adecuado y el más fácil de obtener en el país. Deberá evitarse el uso de grandes cantidades de concentrado o ensilajes en estas raciones, ya que el número de bacterias celulolíticas podría disminuir. Cuando la determinación se inicia por la mañana temprano, no será necesario restringir la dieta a los animales, pero si se realiza más tarde, deberá evitarse el acceso de los animales al agua o alimento por tres horas antes del muestreo. Para obtener el líquido ruminal se quita la tapa de la cánula ruminal y con la mano se retira toda la ingesta seca que pueda existir en la parte alta después se toma la ingesta húmeda de la parte media, si se están usando novillos se puede utilizar un bastón con un vaso de acero inoxidable soldado para facilitar esta operación. El líquido

obtenido se filtra con la ayuda de un embudo provisto de cuatro capas de gasa; la ingesta se exprime y el bagazo seco se desecha. De esta manera deberán obtenerse aproximadamente tres veces el volumen necesario para la determinación. La necesidad de utilizar un termo dependerá de la distancia que haya de los corrales al laboratorio, ya que con práctica las actividades descritas pueden realizarse en 15 minutos. Deberá tenerse cuidado en que el líquido tenga contacto con el aire el menor tiempo posible. Ya en el laboratorio el líquido ruminal puede volverse a filtrar a través de ocho capas de gasa y se pasa a un frasco precalentado a 39°C en el baño maría. Se tapa el frasco y se deja reposar en el baño hasta que se separen dos capas, con una manguera y por succión se toma de la parte inferior la cantidad de inóculo necesaria para realizar la determinación (Llamas y Tejada, 1990).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Nutrición y Unidad Metabólica del Departamento de Nutrición y Alimentos, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila; a 22° 22' LN y 101° 00' LO, con una altitud de 1742 msnm. La zona presenta un clima clasificado: **BWhw(x')(e)**; de muy seco a semicálido con invierno fresco, extremoso; temperatura media anual de 19.8°C y una precipitación media anual de 298.5 mm (Mendoza, 1983).

3.2. Procedimiento Experimental

Para determinar la cinética de la digestión de la fibra de los forrajes en estudio se utilizó la técnica de digestibilidad *in vitro* de Tilley y Terry (1963) con las modificaciones de Goering y Van Soest (1970), la cual se

interrumpió a diferentes tiempos de incubación (4, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 h) y se analizó FDN a cada uno de los respectivos residuos de la fermentación.

3.2.1. Preparación de los Sustratos

Los forrajes estudiados fueron: heno de alfalfa, paja de sorgo y ensilado de maíz. Todos, fueron picados y secados a 65°C por 48 h y posteriormente molidos y cribados a 1 mm (Wiley Mill, Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA.). Antes de su incubación fueron analizados bromatológicamente y se les determinó su contenido de FDN (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Composición bromatológica y fibra en detergente neutro (FDN) de los forrajes estudiados (% de la MS).

	Heno de Alfalfa	Ensilado de Maíz	Paja de Sorgo
Materia Seca	91.71	92.86	91.75
Proteína Cruda	19.72	6.19	5.56
Fibra Cruda	24.66	23.68	36.21
Extracto Etéreo	2.80	2.65	2.21
E. Libre de Nit.	39.95	58.15	45.21
Cenizas	12.87	9.33	10.81
FDN	36.63	64.78	72.14

3.2.2. Preparación del Inóculo

El líquido ruminal se obtuvo de un novillo criollo fistulado y canulado ruminalmente, el cual se alimentó *ad libitum* con heno de alfalfa de buena calidad y rastrojo de maíz (50:50). El animal donador fue alojado en una corraleta metálica para restringir su acceso al alimento y al agua 16 h antes de la extracción del fluido ruminal con el fin de evitar su dilución. Al momento de la colección se midió el pH con un potenciómetro portatil. El inóculo presentó un pH de 6.7 en promedio.

3.2.3. Análisis de los residuos de la digestión

Muestras de cada uno de los forrajes en estudio fueron incubadas por triplicado, y se les analizó FDN a los remanentes de cada tiempo. Para ello, se utilizó la técnica descrita por Goering y Van Soest (1970) con una modificación, la cual consistió en adicionar 0.5 g de sulfito de sodio y 2 ml de solución α -amilasa (A 5426, Sigma Chemical Co.) por muestra. Además, se les determinó su contenido de MS a 105°C por 24 h.

3.3. Análisis Estadístico

Para el análisis de la cinética de la digestión de la FDN se transformaron logarítmicamente los datos obtenidos de la fibra potencialmente digestible (FPD) residual (%). y se usó regresión lineal para estimar los parámetros de la digestión. Considerando el tiempo de 96 h como la extensión máxima de la digestión (fibra potencialmente indigestible, FPI) y la diferencia entre ésta y el contenido de FDN en la muestra original como FPD. La tasa de degradación se obtuvo mediante regresión de los logaritmos naturales de los residuos de FPD en cada uno de los tiempos de incubación (Grant y Mertens, 1992). Considerando la naturaleza del presente estudio se empleo un modelo de regresión lineal simple como a continuación se describe:

$$\gamma_i = \beta \chi_i + \alpha + \varepsilon_i$$

$$i = 1, 2, \dots, n$$

$$\varepsilon_i \sim \text{NI} (0, \sigma^2)$$

Donde:

γ_i = Logaritmo natural de los residuos (%) de FPD del
i-ésimo tiempo de incubación *in vitro*.

χ_i = i-ésimo tiempo (h) de incubación *in vitro*.

β = Coeficiente de regresión. Tasa de degradación (kd)
de las paredes celulares (FDN) de los forrajes.

α = Intercepción al origen.

ϵ_i = Variable aleatoria a la cual se asume distribución
normal con media cero y varianza σ^2 .

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante regresión lineal de los logaritmos naturales de la fibra potencialmente digestible (FPD) a los diferentes tiempos de incubación *in vitro* se construyó el modelo para cada uno de los forrajes estudiados, en el cual β representa la tasa de degradación de la fibra (Figuras 4.1, 4.2 y 4.3).

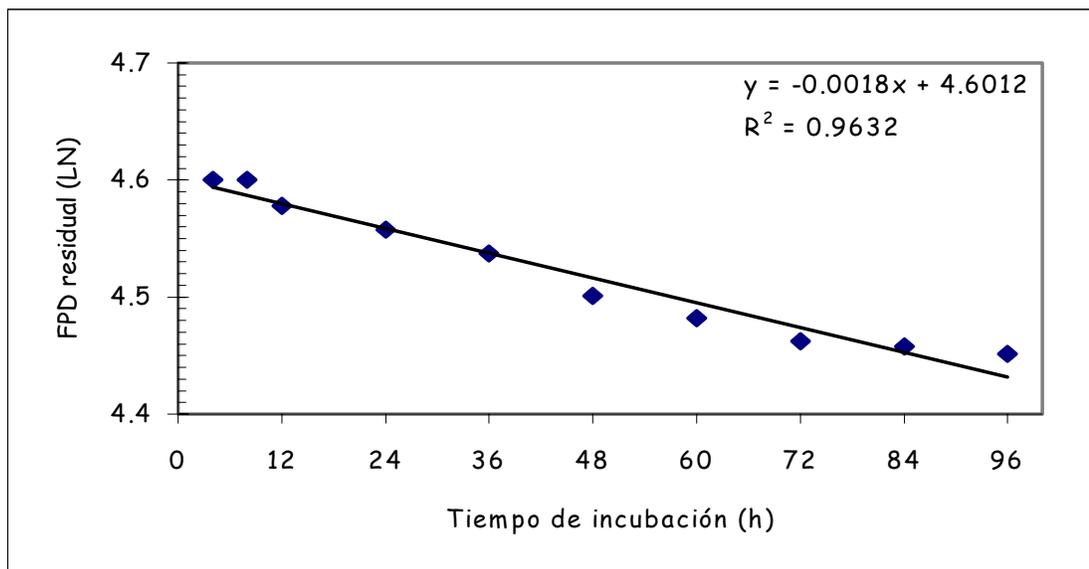


Figura 4.1. Fibra potencialmente digestible (FPD) residual de el heno de alfalfa a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.

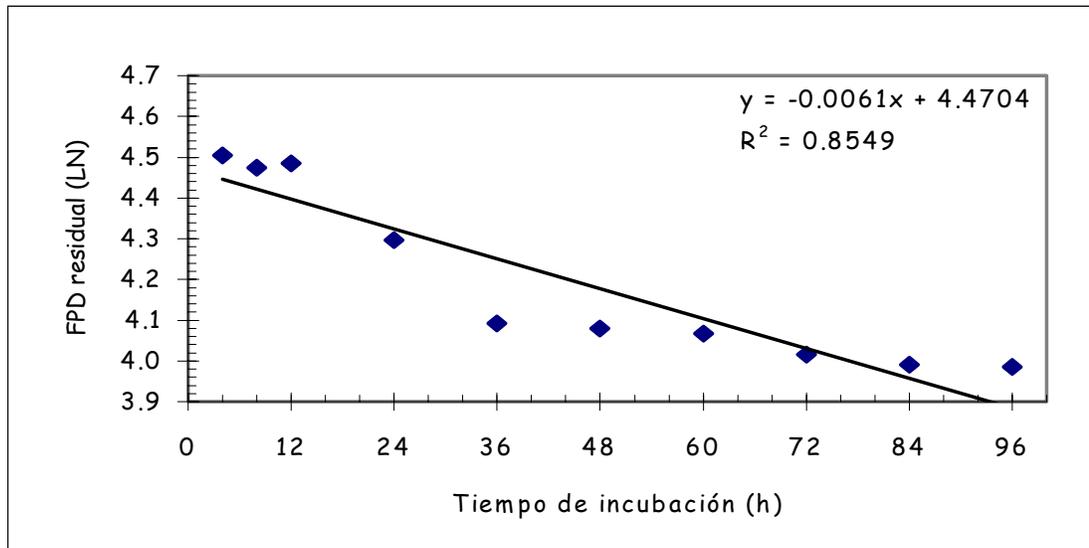
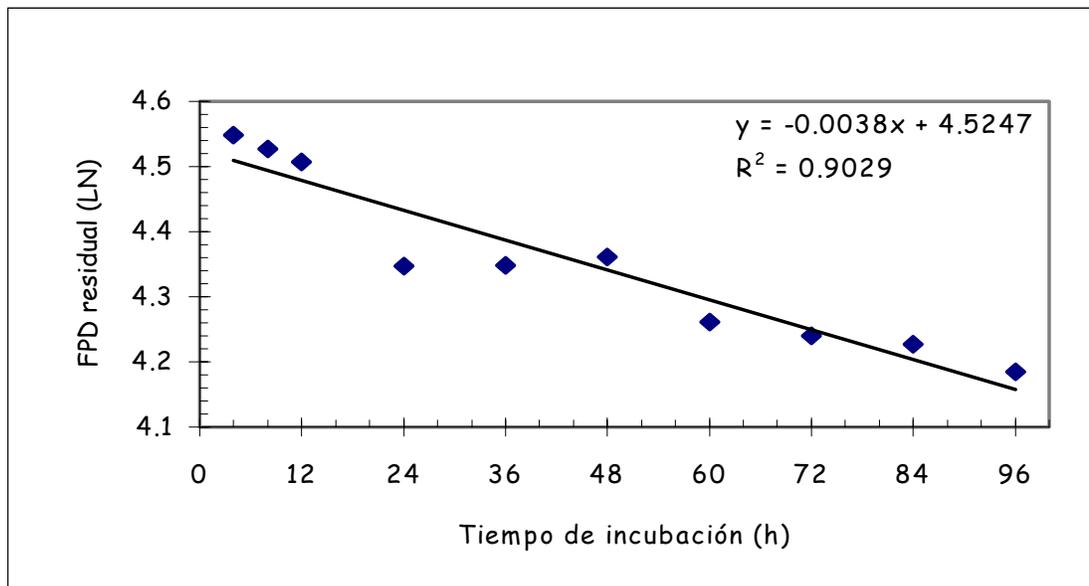


Figura 4.2. Fibra potencialmente digestible (FPD) residual del ensilado de maíz a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.

Figura 4.3. Fibra potencialmente digestible (FPD)



residual de la paja de sorgo a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.

Los resultados encontrados se presentan en el Cuadro 4.1 observándose una mayor tasa de degradación (kd) para

el ensilado de maíz (0.61 %/h) seguido por la paja de sorgo (0.38 %/h) y el heno de alfalfa con un valor kd más bajo a los anteriores (0.18 %/h). Smith *et al.* (1971), encontraron un comportamiento semejante en cuanto a la kd de los forrajes observando valores superiores para las gramíneas en comparación con la alfalfa. Por otro lado, pero solo para alfalfa Smith *et al.* (1972) y Fisher *et al.* (1989) obtuvieron una kd de 0.19 %/h en ambos casos la cual corresponde con lo encontrado en el presente estudio para el mismo forraje (0.18 %/h), pero difiere de los valores reportados por Mertens y Loften (1980) (0.09 %/h) y Grant y Mertens (1992) (0.07%/h). Los resultados del presente trabajo sugieren que tal vez la composición de las paredes celulares de los forrajes estudiados es muy diferente en cuanto a la proporción de celulosa, hemicelulosa y lignina, ya que aún cuando el contenido de FDN del heno de alfalfa es mucho más bajo en comparación con el ensilado de maíz y la paja de sorgo (33.63, 64.78 y 72.14 %, respectivamente) su kd fue más bajo, mientras que para el ensilado de maíz cuyo contenido de FDN fue mayor su kd fue superior. Lo anterior nos hace pensar que el heno de alfalfa presenta un mayor contenido de lignina en sus paredes celulares haciendo que su fibra sea degradada más lentamente y que el ensilado de maíz que presentó la mayor kd, tiene una menor proporción de lignina (posiblemente por ser un forraje succulento) lo que hace que su fibra sea degradada más rápidamente. Al

respecto N.R.C. (1989) reporta porcentajes de FDN muy semejantes a los aquí presentados para los forrajes estudiados, y Smith *et al.* (1971 y 1972) así como Nelson *et al.* (1972) encontraron que la alfalfa contiene una mayor proporción de lignina que las gramíneas, mientras que Cherney *et al.* (1993) observaron el mismo comportamiento al analizar alfalfa con respecto a ensilado de maíz. Besle *et al.* (1994) y Van Soest (1994) señalan que la lignina es generalmente aceptada como la entidad primaria responsable de limitar la digestión de los forrajes. En la actualidad y de acuerdo a lo anterior, se busca desarrollar modelos matemáticos encaminados a predecir la digestibilidad de la fibra de los forrajes a partir de la concentración de lignina de los mismos (Traxler *et al.* 1998).

Cuadro 4.1. Tasa de degradación de la fibra (kd) de los forrajes estudiados.

	Heno de Alfalfa	Ensilado de Maíz	Paja de Sorgo
FDN (%)	36.63	64.78	72.14
FPI (%)	22.36	18.49	37.83
FPD (%)	14.27	46.24	34.31
Kd (%/h)	0.18	0.61	0.38

FDN: Fibra en detergente neutro
 FPI: Fibra potencialmente indigestible
 FPD: Fibra potencialmente digestible

En el cuadro anterior (4. 1) se observa también que los contenidos de FDN de los forrajes no son indicadores de la kd de los mismos como pudiera esperarse. Lo

anterior se explica en la Figura 4. 4, en la cual se observa que la FDN de los forrajes no se relaciona estrechamente con su kd.

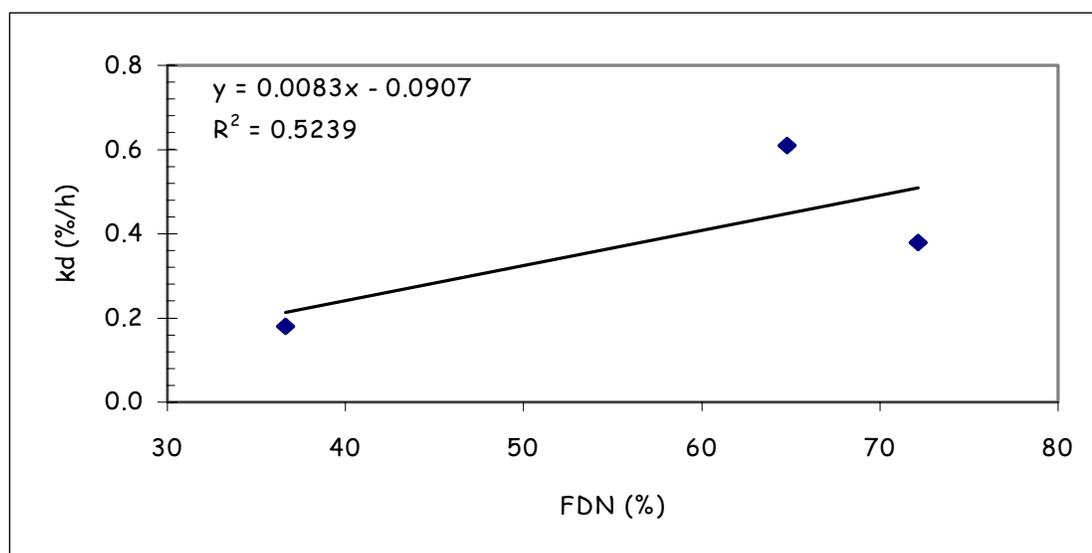


Figura 4.4. Relación entre el contenido de fibra en detergente neutro (FDN) de los forrajes y su tasa de degradación (kd) de las paredes celulares.

En el Cuadro 4.2 se aprecia que el heno de alfalfa tarda en iniciar su degradación, dado que su contenido original de FDN fue de 36.63 % y todavía para las 8 h no ha sufrido una degradación significativa ya que presenta casi la misma cantidad de fibra potencialmente indigestible (FPI) (36.10 %). Mientras que a las 4 h de incubación la paja de sorgo ya presenta una degradación

considerable si comparamos su FDN original (72.14 %) contra su FPI (66.56 %). Para el caso del ensilado de maíz, éste inicia muy pronto su degradación superando considerablemente a los anteriores (FDN: 64.73 vs. FPI: 55.12 % a las 4 h). En este sentido Van Soest *et al.* (1966) encontraron valores semejantes de FPI para la alfalfa (36.3 %) y observaron un comportamiento semejante al del presente estudio al comparar a ésta con algunas gramíneas como timothy, orchard y bromo (60.3, 64.9 y 71.7 % FPI, respectivamente). Lo anterior también puede ser observado en el Cuadro 4.3, en el cual se aprecia un porcentaje de fibra potencialmente digestible (FPD) muy bajo del heno de alfalfa comparado con la paja de sorgo y el ensilado de maíz a las 4 h de incubación (0.49, 5.58 y 9.61 % respectivamente). Además, en este cuadro se puede observar que el heno de alfalfa presenta el menor porcentaje de FPD seguido por la paja de sorgo y el ensilado de maíz el cual obtuvo el mayor valor (14.27, 34.31 y 46.24 %, respectivamente) esto, a las 96 h, tiempo al cual se considera ha ocurrido la máxima digestión (Llamas y Tejada, 1990; Grant y Mertens, 1992)

Cuadro 4.2. Porcentaje de fibra potencialmente indigestible de los forrajes estudiados a diferentes tiempos de incubación (T.I.) *in vitro*.

T.I. (h)	Heno de Alfalfa	Ensilado de Maíz	Paja de Sorgo
4	36.14	55.12	66.56
8	36.10	52.47	64.64
12	33.92	53.35	62.81
24	32.00	38.21	49.36
36	30.10	24.60	49.51
48	26.72	23.89	50.47
60	25.07	23.07	42.99
72	23.34	20.18	41.69
84	22.94	18.83	40.69
96	22.36	18.49	37.83

Cuadro 4.3. Porcentaje de fibra potencialmente digestible de los forrajes estudiados a diferentes tiempos de incubación (T.I.) *in vitro*.

T.I. (h)	Heno de Alfalfa	Ensilado de Maíz	Paja de Sorgo
4	0.49	9.61	5.58
8	0.53	12.26	7.50
12	2.71	11.38	9.33
24	4.63	26.52	22.78
36	6.53	40.13	22.63
48	9.91	40.84	21.67
60	11.56	41.66	29.15
72	13.29	44.55	30.45
84	13.69	45.90	31.45
96	14.27	46.24	34.31

De igual forma, al analizar los resultados en terminos de digestibilidad de las paredes celulares de los forrajes (Cuadro 4.4), encontramos un coeficiente

demasiado bajo a las 4 h de incubación *in vitro* para el heno de alfalfa (1.34 %) comparado con la paja de sorgo (7.73 %) y un valor bastante bueno (14.85 %) para el ensilado de maíz. Y por lo tanto comportandose de igual forma a las 96 h (extensión máxima de la digestión) presentando valores superiores para el ensilado de maíz (71.44 %), seguido por la paja de sorgo (47.56 %) y finalmente el heno de alfalfa con un coeficiente más bajo (38.96 %). Lo anterior indica que el heno de alfalfa presenta un tiempo de retraso de la fermentación mayor comparado con la paja de sorgo y el ensilado de maíz. Smith *et al.* (1971) reportan un comportamiento semejante al evaluar alfalfa, timothy y orchard (38.0, 61.7 y 65.7 % DFDN, respectivamente) y Nelson *et al.* (1972) encontraron coeficientes de digestibilidad de la FDN de 36.3 % para la alfalfa y de 55.9 % para el ensilado de maíz, resultados que son muy semejantes a los reportados en este estudio para los mismos forrajes. Los coeficientes de digestibilidad de las paredes celulares presentaron una tendencia lineal para todos los forrajes estudiados (Figuras 4.5, 4.6 y 4.7).

Cuadro 4.4. Digestibilidad de las paredes celulares de los forrajes estudiados a diferentes tiempos de incubación (T.I.) *in vitro*.

T.I. (h)	Heno de Alfalfa	Ensilado de Maíz	Paja de Sorgo
4	1.34	14.85	7.73
8	1.45	18.94	10.39
12	7.40	17.58	12.93
24	12.64	40.97	31.58
36	17.83	61.99	31.40
48	27.05	63.09	30.04
60	31.56	64.36	40.41
72	36.28	68.82	42.21
84	37.37	70.91	43.60
96	38.96	71.44	47.56

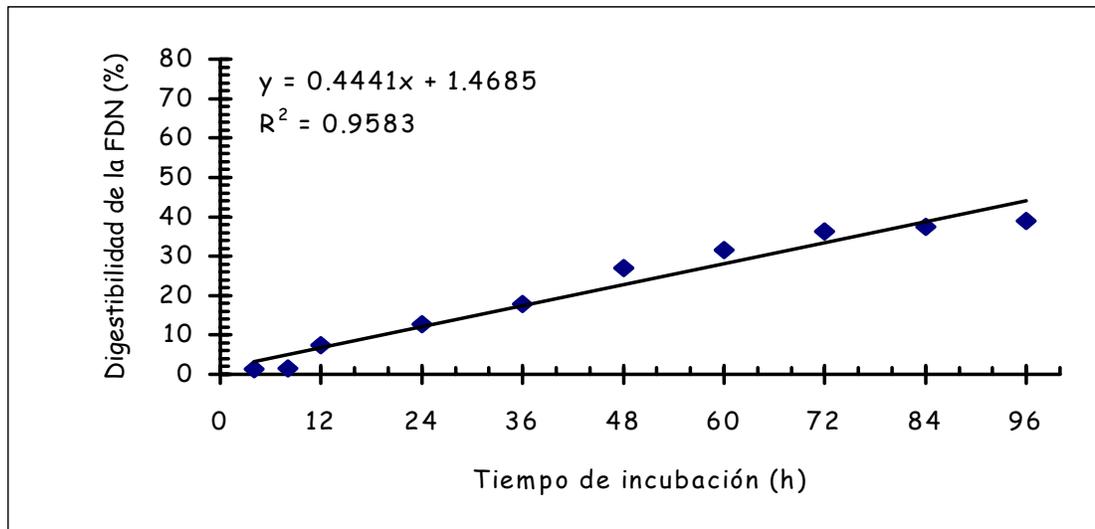


Figura 4.5. Digestibilidad de la fibra en detergente neutro (FDN) del heno de alfalfa a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.

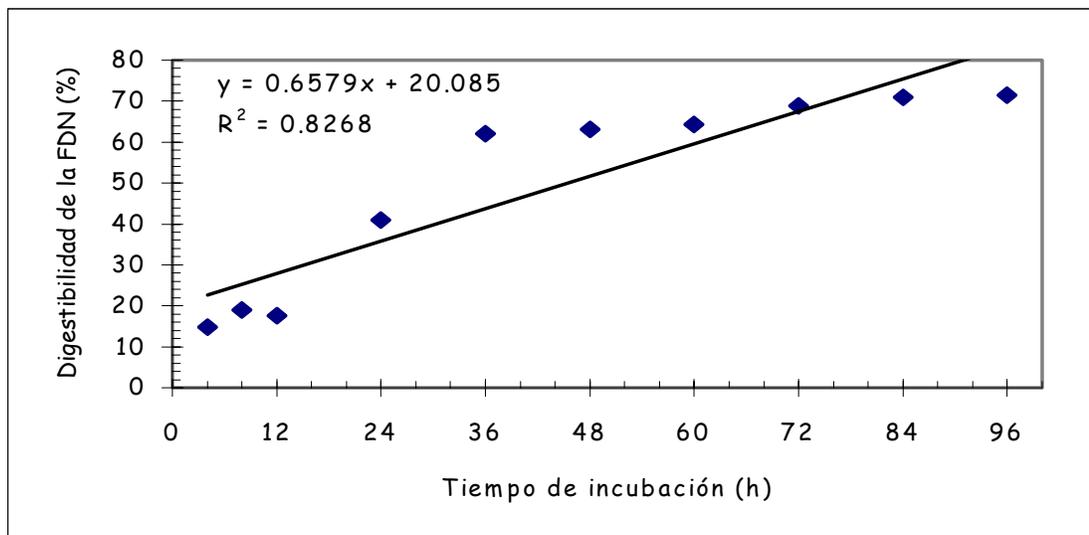


Figura 4.6. Digestibilidad de la fibra en detergente neutro (FDN) del ensilaje de maíz a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.

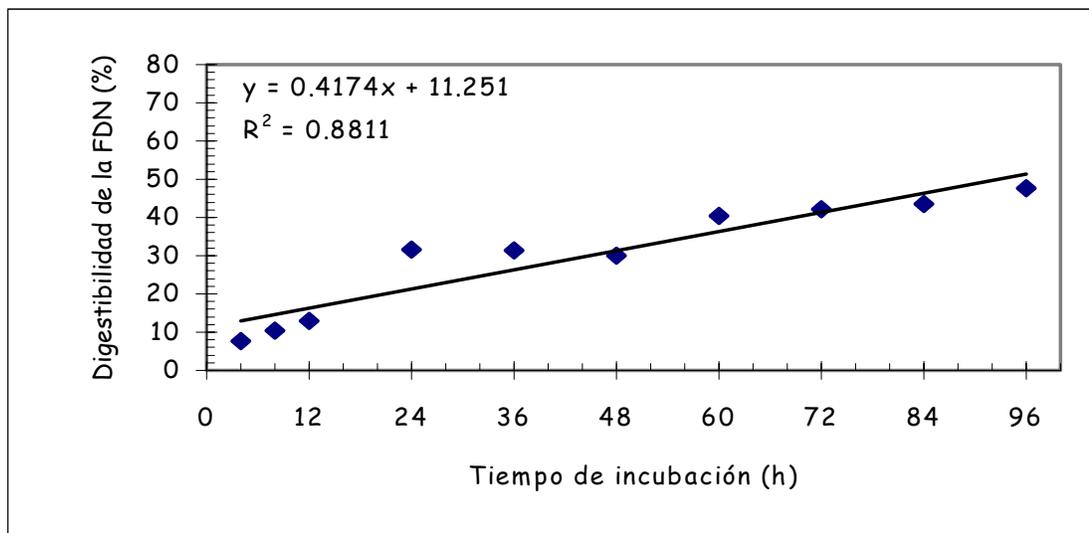


Figura 4.7. Digestibilidad de la fibra en detergente neutro (FDN) de la paja de sorgo a diferentes tiempos de incubación *in vitro*.

5. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

La FDN de los forrajes no presenta una estrecha relación con la kd de las paredes celulares, la cual al parecer está más relacionada con el contenido de lignina de los forrajes.

El heno de alfalfa presenta una kd de las paredes celulares más lenta, aún cuando su contenido de FDN es más bajo, esto posiblemente debido a su mayor contenido de lignina.

El ensilado de maíz presenta una kd de las paredes celulares más rápida, aún cuando su contenido de FDN es mayor, esto posiblemente debido a su menor contenido de lignina.

Evaluar a los forrajes mediante un modelo de regresión lineal para obtener se kd, es muy sencillo y nos ayuda a comprender mejor lo que pasa con el alimento durante su paso por el tracto digestivo.

6. RESUMEN

Dado que los forrajes son parte importante en la alimentación de los rumiantes la calidad de éstos tiene un fuerte impacto en la producción. La digestibilidad es uno de los factores más importantes que determinan la calidad de los forrajes y su estimación nos permite planear el uso más adecuado de los forrajes al momento de realizar los programas de alimentación.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la tasa de degradación (kd) de la fibra de algunos forrajes de uso común mediante la técnica *in vitro*. Ésta, consiste en 2 etapas: la primera se basa en la fermentación de la fibra; En la segunda se lleva a cabo una digestión con pepsina en medio ácido.

Para la determinación de la cinética de la digestión de la fibra de los forrajes se utilizó la primera etapa de la digestibilidad *in vitro*, interrumpida a diferentes tiempos de incubación. Los forrajes estudiados fueron: heno de alfalfa, paja de sorgo y ensilado de maíz. Antes de su incubación se les determinó su contenido de FDN. Las muestras fueron incubadas por triplicado y a los remanentes de cada tiempo, se les analizó FDN. Para el

análisis de la cinética de la digestión de la FDN se uso el modelo de cinética descrito por Grant y Mertens (1992).

Se encontró una kd más baja para el heno de alfalfa (0.18 %/h) comparada con la paja de sorgo (0.38 %/h) y el ensilado de maíz (0.61 %/h), así como un mayor retraso en la fermentación de los forrajes en el mismo orden de aparición (0.49, 5.58 y 9.96 % FPD a las 4 h de incubación *in vitro*).

Se concluye que la FDN de los forrajes estudiados no presenta una estrecha relación con su kd, la cual al parecer está más relacionada con su contenido de lignina.

7. LITERATURA CITADA

Barton, F. E. ; H. E. Amos ; D. Burdick and R. L. Wilson. 1976. Relationship of chemical analysis to *in vitro* digestibility for selected tropical and temperate grasses. J. Anim. Sci. 43: 504.

Burroughs, W. ; P. Gerlaugh ; B. H. Edgington and R.M. Bethke. 1949. The influence of corn starch upon roughage digestion in cattle. J. Anim. Sci. 8: 271.

Cherney, D. J. R. ; J. Siciliano-Jones and A. N. Pell. 1993. Forage *in vitro* dry matter digestibility as influenced by fiber source in the donor cow diet. J. Anim. Sci. 71:1335.

Deinum, B. ; A. J. Van Es ; and P. J. Van Soest. 1968. Climate, nitrogen and grass. II. The influence of light intensity, temperature and nitrogen on *in vivo* digestibility of grass and the prediction of these effects from some chemical procedures. Netherlands J. Agr. Sci. 16: 217.

Donefer, E. ; E. W. Crampton and L. E. Lloyd. 1960. Prediction of the nutritive value index of a forage from *in vitro* rumen fermentation. J. Anim. Sci. 19: 545.

Fisher, D. S. ; J. C. Burns and K. R. Pond. 1989. Kinetics of *in vitro* cell-wall disappearance and *in vivo* digestion. Agron. J. 81: 25.

Gill, S. S. ; H. R. Conrad and J. W. Hibbs. 1969. Relative rate of *in vitro* cellulose disappearance as a possible estimator of digestible dry matter intake. J. Dairy Sci. 52: 1687.

Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses. USDA. Handb. No. 379. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.

Grant, R. J. and D. R. Mertens. 1992. Impact of *in vitro* fermentation techniques upon kinetics of fiber digestion. J. Dairy Sci. 75: 1263.

Herrera, R. 1993. La importancia de la calidad de los forrajes en la producción del ganado lechero especializado. En: Ortega, C. M. y M. G. Mendoza. (Eds.). Memorias del Curso Internacional Avanzado de Nutrición de Rumiantes. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México.

Hoover, W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. J. Dairy Sci. 69: 2755.

Horton, G. M. ; D. A. Christensen and G. M. Steacy. 1980. *In vitro* fermentation of forages with inoculum from cattle and sheep fed different diets. Agron. J. 72: 601.

Hughes, H. D. ; M. E. Heath y D. S. Metcalfe. 1981. Forrajes. Ed. C.E.C.S.A. México.

Llamas, G. y I. Tejada. 1990. Técnicas de laboratorio para el análisis de forrajes para rumiantes. En: Castellanos, R. A. ; L. G. Llamas y S. A. Shimada. (Eds.). Manual de Técnicas de Investigación en Rumiología. Sistema de Educación Continua en Producción Animal. A. C. México, D. F.

MacRae, J. C. and D. G. Armstrong. 1969. Studies on intestinal digestion in the sheep. 2. Digestion of some carbohydrate constituents in hay, cereal, and hay-cereal rations. Brit. J. Nutr. 23: 377.

Mendoza, H. J. M. 1983. Boletín Meteorológico Para la Zona de Influencia de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. U.A.A.AN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Mertens, D. R. and J. R. Loften. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. J. Dairy Sci. 63: 1437.

Moore, J. E. and G. O. Mott. 1972. Recovery of residual organic matter from *in vitro* digestion of forages. J. Dairy Sci. 57: 1258.

Morrison, I. M. 1979. The degradation and utilization of straw in the rumen. Straw decay and its effect on disposal and utilization, Proc. of a Symposium. Grasbard, E. (Ed.).

Nelson, B. D. ; H. D. Elzey; C. Montgomery and B. Morgan. 1972. Factors affecting the variability of an in vitro rumen fermentation technique for estimating forage quality. J. Dairy Sci. 55:358.

N.R.C. National Research Council. 1989. Nutrient requirements of dairy cattle. Sixth revised edition. National Academy Press Washington, D. C.

Rodríguez, G. F. y L. G. Llamas. 1990. Digestibilidad, balance de nutrimentos, y patrones de fermentación ruminal. En: Castellanos, R. A. ; L. G. Llamas y S. A. Shimada. (Eds.). Manual de Técnicas de Investigación en Rumiología. Sistema de Educación Continua en Producción Animal. A. C. México.

Smith, L. W. ; H. K. Goering ; D. R. Waldo and C. H. Gordon. 1971. *In vitro* digestion rate of forage cell wall components. J. Dairy Sci. 54: 71.

Smith, L. W. ; H. K. Goering and C. H. Gordon. 1972. Relationships of forage compositions with rates of cell wall digestion and indigestibility of cell walls. J. Dairy Sci. 55: 1140.

Tejada, I. y B. Carrasco. 1990. La toma de muestras, su conservación y envío al laboratorio. En: Castellanos, R. A. ; L. G. Llamas y S. A. Shimada. (Eds.). Manual de Técnicas de Investigación en Rumiología. Sistema de Educación Continua en Producción Animal. A. C. México, D. F.

Tejada, I. 1992. Control de calidad y análisis de alimentos para animales. En: Castellanos, R. A. ; L. G. Llamas y S. A. Shimada. (Eds.). Manual de Técnicas de Investigación en Rumiología. Sistema de Educación Continua en Producción Animal. A. C. México. D. F.

Tejada, I. 1993. Pruebas para evaluar la calidad de los alimentos para rumiantes. En: Ortega, C. M. y M. G. Mendoza. (Eds.). Memorias del Curso Internacional

Avanzado de Nutrición de Rumiantes. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México, D. F.

Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Brit. Grassld. Soc. 18: 104.

Van Soest, P. J. ; R. H. Wine and L. A. Moore. 1966. Estimation of the true digestibility of forages by the *in vitro* digestion of cell walls. Proc. X Int. Grassland Congr., Helsinki, Finland. Sect. 2, Pap. 20:438.

Van Soest, P. J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. J. Anim. Sci. 26: 119.

Van Soest, P. J. ; R. H. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. The determination of plant cell wall constituents. J. Ass. Offici. Anal. Chemists. 50: 50.

Van Soest, P. J. 1976. Physico-chemical aspects of fiber digestion, proc. of the IV. International symposium in ruminant nutrition. McDonald and Worner (Eds.).

Van Soest, P. J. 1982. Nutritional Ecology of the Ruminant. O & B Books Inc. Corvallis, Oregon, U. S. A.

Waldo, D. R. ; L. W. Smith and E. L. Cox. 1972. Model of cellulose disappearance from the rumen. J. Dairy Sci. 55: 125.

Williams, V. J. ; M. C. Rottle ; R. J. Moir and E. J. Underwood. 1953. Ruminant floral studies in the sheep. IV. The influence of varying dietary levels of protein and starch upon digestibility, nitrogen retention, and the free microorganisms of the rumen. Australian J. Biol. Sci. 6: 142.