

# Digestibilidad in vitro de la materia seca de especies forrajeras tropicales. 2. Factores asociados con su determinación\*

Nelmy Narváz V. y C. Lascano\*\*

## Introducción

En el artículo anterior se estudiaron las relaciones existentes entre los principales métodos utilizados en la determinación de la DIVMS de las especies forrajeras tropicales (Narváz y Lascano, 1989). Sin embargo, es importante considerar que existen algunos factores como el método de secado y la fuente del inóculo que pueden afectar los resultados de la digestibilidad in vitro, independientemente del método utilizado para su determinación.

El objetivo del presente ensayo fue evaluar el efecto del método de secado y la adición de un suplemento proteínico y/o energético al medio de fermentación en la DIVMS de gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales.

## Materiales y métodos

**Efecto de la temperatura de secado en la determinación de la DIVMS.** En este ensayo se utilizaron los métodos Tilley y Terry (1963) modificado por Moore (1970) y Tilley y Terry (1963) modificado por Van Soest et al. (1966), para determinar la DIVMS de las gramíneas y leguminosas utilizadas en el primer ensayo (Narváz y Lascano, 1989). Se compararon los

métodos de secado en horno a 60 °C y 100 °C, y liofilización. Este último consiste en pasar directamente del estado sólido (congelado) al gaseoso en un medio de vacío.

**Efecto de la urea y glucosa en la determinación de la DIVMS.** Para este ensayo se empleó el método modificado Moore (1970). Para el efecto se realizaron tres pruebas con muestras secadas a 60 °C, utilizando inóculo proveniente de un mismo animal. Las pruebas incluyeron cinco niveles de adición al medio bufer (0.00%, 0.03%, 0.05%, 0.07% y 0.09%) de urea, glucosa y urea más glucosa en cantidades iguales. Para las comparaciones de los efectos se tomaron como base los niveles de 0.05% de urea, recomendado por Baumgardt et al. (1962) y de 0.09% de urea más glucosa, recomendado por Troelsen y Hanel (1966).

**Análisis de los resultados.** Los resultados de los ensayos se analizaron por regresión y el efecto de los tratamientos se determinó de acuerdo con la metodología empleada en el primer estudio por Narváz y Lascano (1989).

## Resultados y discusión

**Efecto de la temperatura de secado en la DIVMS**

**Comparación de la DIVMS de especies forrajeras secadas a 100 °C, y liofilizadas con muestras secadas a 60 °C.** El método de secado

\* Resumen de parte del trabajo de grado del autor principal presentado para obtener el título de Zootecnista, Universidad Nacional, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira, Colombia.

\*\* Respectivamente: zootecnista y jefe de la sección de Productividad y Calidad de Pasturas del Programa de Pastos Tropicales del CIAT, Apartado aéreo 6713, Cali, Colombia.

de muestras de forraje comúnmente utilizado es en horno a 60 °C. En este ensayo se comparó la DIVMS con el método modificado Moore en muestras secadas a 60 °C, con muestras secadas a 100 °C y con muestras liofilizadas. El análisis mostró que en la regresión de la DIVMS de gramíneas y leguminosas secadas a 100 °C (Y) con la DIVMS de muestras secadas a 60 °C (X), el intercepto no fue diferente de cero ni la pendiente de uno ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 1). En la comparación de la DIVMS de muestras liofilizadas (Y) con muestras secadas a 60 °C, se encontró que el intercepto y la pendiente de la regresión en gramíneas no fueron diferentes de cero. Sin embargo, con las leguminosas sí se encontró un efecto de los métodos de secado; la DIVMS en muestras de leguminosas liofilizadas fue mayor ( $P < 0.05$ ) que en las muestras secadas a 60 °C. En la comparación de métodos por regresión el intercepto fue mayor de cero y la pendiente mayor de uno (Cuadro 1).

En una segunda prueba, utilizando el método in vitro de Van Soest, se observó que el efecto de los métodos de secado en la DIVMS fue similar al encontrado con el método modificado Moore. Nuevamente, las muestras liofilizadas de leguminosas presentaron una mayor DIVMS que las muestras secadas a 60 °C, como lo demuestra el análisis de regresión, en el cual el intercepto fue mayor de cero y la pendiente menor de uno ( $P < 0.01$ ) (Cuadro 1).

La mayor DIVMS de las leguminosas sometidas a liofilización pudo deberse a la presencia de taninos, los cuales están ausentes en las gramíneas. En ausencia de calor (lioilización) pudo ocurrir una menor reacción de taninos con nitrógeno de la planta y en consecuencia menor formación de compuestos indigeribles.

Las leguminosas incluidas en el estudio presentaron niveles variables de tanino; *Stylosanthes capitata*, *Centrosema acutifolium* y *Zornia glabra* presentaron niveles bajos, y *Desmodium* sp. y *Tadehagi* sp. presentaron niveles muy altos. Ramírez y Posso (1984) encontraron que la liofilización de muestras de *D. ovalifolium*, con alto contenido de taninos, resultó en mayores valores de DIVMS en comparación con muestras secadas a 60 °C y 100 °C.

Los resultados de este estudio muestran que para la determinación de la DIVMS, independientemente del método in vitro utilizado, el secado influye más en leguminosas que en gramíneas; con las primeras se requiere liofilización, lo cual no siempre es factible debido al alto costo de los equipos requeridos. En consecuencia, se recomienda que los resultados de la DIVMS de leguminosas secadas en horno se corrijan con ecuaciones apropiadas (Cuadro 1).

### Efecto del nivel de urea y glucosa en la DIVMS

Para evaluar el efecto de la adición de urea, glucosa, y de urea más glucosa en la DIVMS de especies forrajeras se realizaron varios ensayos in vitro, utilizando el método modificado Moore.

**Efecto de la adición de urea y glucosa en la DIVMS de gramíneas y leguminosas.** En las 9 gramíneas y 11 leguminosas incluidas en este estudio no se encontró variación en la DIVMS al suplementar el medio de fermentación con urea entre 0% y 0.07%. Sin embargo, al utilizar el nivel más alto (0.09%), se observó una depresión en la digestibilidad de las gramíneas y

Cuadro 1. Relación entre métodos de determinación de la DIVMS y de secado de especies forrajeras tropicales.

Métodos		a	b	R <sup>2</sup>	S <sub>yx</sub>	a ≠ 0	b ≠ 1
Gramíneas	Moore (100 °C) vs. Moore (60 °C)	1.62	0.95	0.98	1.91	ns	ns
	Moore (lioilizado) vs. Moore (60 °C)	-3.30	1.14	0.94	3.96	ns	ns
	Van Soest (100 °C) vs. Van Soest (60 °C)	5.46	0.87	0.94	2.96	ns	ns
	Van Soest (lioil.) vs. Van Soest (60 °C)	4.01	0.98	0.96	2.53	ns	ns
Leguminosas	Moore (100 °C) vs. Moore (60 °C)	-1.48	1.00	0.95	3.26	ns	ns
	Moore (lioilizado) vs. Moore (60 °C)	14.00	0.76	0.85	4.53	**	*
	Van Soest (100 °C) vs. Van Soest (60 °C)	-2.27	1.02	0.89	4.22	ns	ns
	Van Soest (lioil.) vs. Van Soest (60 °C)	31.80	0.49	0.52	5.55	**	**

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; ns = no significativo.

leguminosas, como se muestra en la Figura 1. Por otra parte, no se encontró efecto en la DIVMS al adicionar glucosa al medio de fermentación (Figura 2).

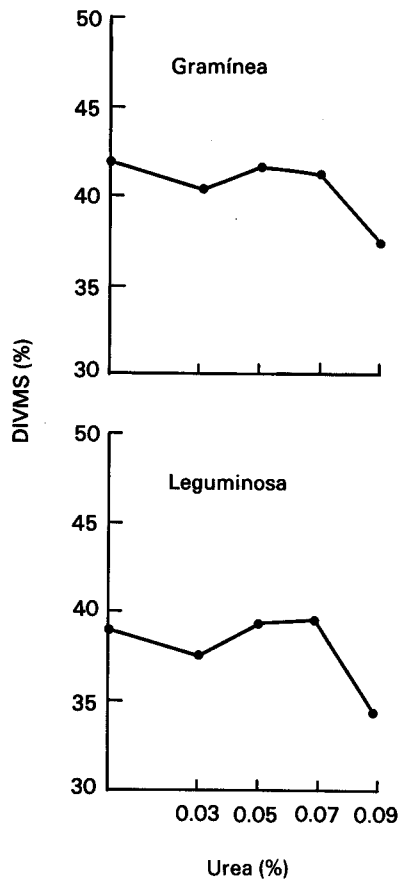


Figura 1. Relación entre la DIVMS de varias gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales y la adición de urea al medio de fermentación.

Es interesante anotar que a pesar del amplio rango en el contenido de PC de las gramíneas (2.6% a 10.7%) no se encontró respuesta en ninguna de ellas con la aplicación de urea al medio de fermentación. Esto posiblemente se debió a que el animal donante recibió torta de soya y en consecuencia el inóculo utilizado era rico en N. En trabajos similares al presente, Tilley et al. (1963) no encontraron cambios en la DIVMS de forrajes suplementados con N cuando utilizaron un inóculo extraído de ovinos que recibieron heno con 10% de PC; pero cuando el inóculo se extrajo de ovinos alimentados con heno de baja calidad (3% de PC), sí se encontraron diferencias con la adición de 6 mg de urea/tubo de ensayo.

El efecto depresivo en la DIVMS, tanto en gramíneas como en leguminosas, con la adición del nivel alto de urea posiblemente se debió a la acumulación de amonio en el sistema cerrado in vitro. Esto resulta en un aumento en el pH del medio con efectos negativos en las bacterias celulolíticas (Raymond, 1967).

La falta de respuesta a la suplementación del medio de fermentación con glucosa solamente (Figura 2) pudo deberse a la ausencia en el medio de una fuente adicional de N aprovechable para la actividad bacteriana (Lewis y McDonald, 1958).

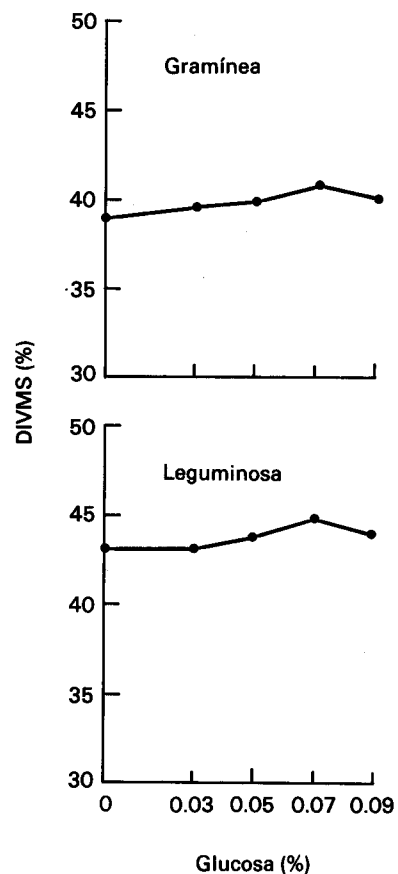


Figura 2. Relación entre la DIVMS de varias gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales y la adición de glucosa al medio de fermentación.

**Efecto de la adición de urea más glucosa en la DIVMS de gramíneas y leguminosas.** La adición de urea más glucosa al medio in vitro afectó la DIVMS de las especies (Figura 3). Esta tendencia se observó tanto en gramíneas ( $P < 0.10$ ) como en leguminosas ( $P < 0.06$ ) con el nivel de 0.05%. Con el nivel de 0.09% de urea más glucosa no se observó un efecto depresivo en la DIVMS.

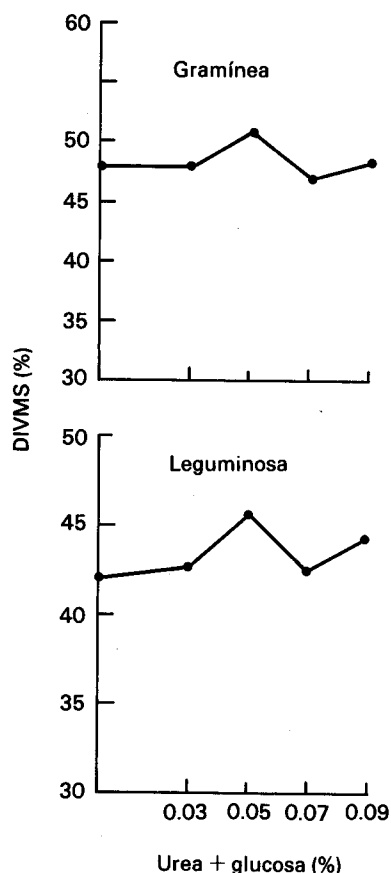


Figura 3. Relación entre la DIVMS de varias gramíneas y leguminosas forrajeras tropicales y la adición de urea más glucosa al medio de fermentación.

A pesar de que en este estudio ocurrió un incremento en la DIVMS de gramíneas y leguminosas con la adición de 0.05% de urea más glucosa al medio buffer, este aumento fue relativamente pequeño. Es posible que además de una fuente energética se requieran otros nutrientes que permitan una mayor utilización de la urea. En estudios con rumen artificial, Bourroughs et al. (1950a, 1950b, 1950c, 1951) encontraron que los minerales tienen un efecto positivo en la digestión de la celulosa; nutrientes como hierro, ausente en el medio empleado en este estudio, fue efectivo para estimular la utilización de la urea y la digestión de la celulosa por los microorganismos del rumen.

En resumen, de este estudio resulta claro que con gramíneas y leguminosas tropicales, con contenido variable de PC, no se encontró respuesta en la DIVMS al adicionar urea al inóculo ruminal proveniente de un animal con régimen adecuado de nutrición. Sin embargo, en estas mismas condiciones, la suplementación del

inóculo con urea más glucosa resultó en incrementos moderados de la DIVMS. En consecuencia, se recomienda incluir urea más glucosa al 0.05% en los sistemas in vitro como medida de estandarización, ya que no siempre el animal donante se alimenta con una dieta adecuada en proteína.

## Conclusiones

De los resultados obtenidos en estos ensayos se puede concluir: 1) la temperatura de secado de las muestras afectó la DIVMS de gramíneas y leguminosas. El secado en horno, independientemente del método in vitro utilizado, en comparación con la liofilización, resultó en menores valores de DIVMS de leguminosas pero no de gramíneas, lo cual implica el uso de liofilización o la aplicación de factores de corrección en la determinación de la DIVMS de las leguminosas. 2) La adición de urea o glucosa no afectó la DIVMS de gramíneas y leguminosas con un amplio rango de contenido de PC. Niveles altos de urea resultaron en disminución de la DIVMS. Sin embargo, el uso de urea más glucosa resultó sólo en pequeños aumentos de la DIVMS, posiblemente debido al uso de licor ruminal de animales con suplementación adecuada de nitrógeno.

## Summary

The effect of oven-drying temperature (60 °C and 100 °C) and freeze-drying was evaluated in CIAT's Pasture Quality and Nutrition Laboratory. The effect on IVDMD of grasses and legumes by the addition of a nitrogen and/or energetic supplement (urea, glucose, and urea + glucose) in the fermentation media was also evaluated. The levels of urea, glucose, and urea + glucose were 0.03%, 0.05%, 0.07%, and 0.09% of the buffer medium. The results on drying method were analyzed by linear regression and a 't' test was used to determine if the intercept was different from 0 or the slope different from 1.

The drying method affected the IVDMD of legumes but not grasses. Oven-drying, regardless of the in vitro method utilized, in comparison with freeze-drying, resulted in lower values of IVDMD of legumes. This implies that for IVDMD determination in tropical legumes, samples should be freeze-dried or that some correction factor should be applied. The addition

of urea or glucose did not affect the IVDMD of grasses and legumes, with a wide range of CP content. High levels of urea resulted in a depression of IVDMD of those grasses and legumes. On the other hand, the use of urea plus glucose resulted only in small increases in IVDMD, possibly due to the use of ruminal liquor of animals with an adequate supplementation of nitrogen.

## Referencias

- Baumgardt, B. R.; Taylor, M. W. y Cason, J. L. 1962. Evaluation of forages in the laboratory. II. Simplified artificial rumen procedure for obtaining repeatable estimates of forage nutritive value. *J. Dairy Sci.* 45:62-68.
- Bourroughs, W.; Gerlaugh, P. y Bethke, R. M. 1950a. The influence of alfalfa hay and fractions of alfalfa hay upon the digestion of ground corn cobs. *J. Anim. Sci.* 9:207-213.
- ; Headkley, H. G.; Bethke, R. M. y Gerlaugh, P. 1950b. Cellulose digestion in good and poor quality roughages using an artificial rumen. *J. Animal Sci.* 9:513-522.
- ; Long, J.; Gerlaugh, P. y Bethke, R. M. 1950c. Cellulose digestion by rumen microorganisms as influenced by cereal grains and protein-rich feeds commonly fed to cattle using artificial rumen. *J. Animal Sci.* 9:523-530.
- ; Latona, A.; DePaul, P.; Gerlaugh, P. y Bethke, R. M. 1951. Mineral influences upon urea utilization and cellulose digestion by rumen microorganism using the artificial rumen technique. *J. Anim. Sci.* 10:693-705.
- Lewis, D. y McDonald, I. W. 1958. The inter-relationships of individual proteins and carbohydrates during fermentation in the rumen of the sheep. I. The fermentation of casein in the presence of starch or other carbohydrate materials. *J. Agr. Sci.* 51:108.
- Moore, J. E. 1970. Procedure of the two-stage in vitro digestion of forages. University of Florida, Department of Animal Science. En: Center for Tropical Agriculture (eds.). Métodos para el análisis químico y la evaluación biológica de alimentos para animales. University of Florida. Gainesville, Florida. E.U.
- Narváez, N. y Lascano, C. 1989. Digestibilidad in vitro de especies forrajeras tropicales. 1. Comparación de métodos de determinación. *Pasturas trop.* 11(1):13-18.
- Ramírez, V. G. y Posso, L. S. 1984. Algunos factores relacionados con la digestibilidad de la leguminosa *Desmodium ovalifolium*. Tesis Zootecnista. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. 63 p.
- Raymond, W. F. 1967. Aplicación de las técnicas de digestibilidad in vitro. En: Paladines, O. (ed.). Métodos in vitro para determinar el valor nutritivo de los forrajes. Simposio en La Estanzuela, Uruguay, octubre 4 a 7, 1966. p. 1-29.
- Tilley, J. M. A.; Terry, R. A.; Deriaz, R. E. y Outen, G. E. 1963. Studies of herbage digestibility using the in vitro method. En: Experiment in Progress 16. Hurley, Grassland Research Institute. p. 64-67.
- Tilley, J. M. A. y Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* 18:104-111.
- Troelsen, J. E. y Hanel, D. J. 1966. Ruminant digestion in vitro as affected by inoculum donor, collection day and fermentation time. *Can. J. Anim. Sci.* 46:149-156.
- Van Soest, P. J.; Wine, R. H. y Moore, L. A. 1966. Estimation of the true digestibility of forages by the in vitro digestion of cell walls. En: Hill, A. (ed.). X International Grassland Congress, Helsinki. Memorias. Helsinki. p. 438-441.