

Validación de heces ovinas con la técnica de gas *in vitro* para valorar alimentos destinados a rumiantes

Mileidys González Rodríguez, Alex A. Resillez Pujal, Redimio M. Pedraza Olivera, Silvio J. Martínez Sáez

* Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba

misleidis.gonzalez@redu.edu.cu

RESUMEN

Se evaluaron heces ovinas depuestas como inóculo en la técnica de producción de gases para la valoración nutritiva *in vitro* e *in sacco* de los pastos tropicales: tejana (*Paspalum notatum*), estrella (*Cynodon nlemfuensis*), guinea (*Panicum maximum*), pajilla (*Sporobolus indicus*) y leguminosa rastrea (*Desmodium* sp). Las heces procedían de animales que consumían pastos de gramíneas. Inyecciones sistemáticas de CO₂ impidieron que los microorganismos anaerobios estrictos contactaran con el oxígeno. Existió correlación positiva y significativa entre la producción de gas con heces ovinas depuestas y la producción de gas con líquido ruminal de ovinos. El coeficiente de determinación fue de 0,79. El mayor valor nutritivo lo alcanzaron los pastos guinea (*Panicum maximum*) y estrella (*Cynodon nlemfuensis*) y el menor pajilla (*Sporobolus indicus*).

Palabras clave: heces ovinas, digestibilidad, valor nutritivo

Ovine Excreta Validation Through *in vitro* Biogasification to Assess Pastures for Ruminants Feeding

ABSTRACT

Ovine excreta as inoculum for biogasification was used to assess *in vitro* and *in sacco* nutritive value of tropical pastures for ruminants. Pastures under study were: *Paspalum notatum*, *Cynodon nlemfuensis*, *Panicum maximum*, *Sporobolus indicus*, and *Desmodium* sp. Excreta were collected on grassy pastures areas. CO₂ systematic injections prevented strict anaerobic microorganisms contact with oxygen. A positive and significant correlation resulted from biogasification using either ovine excreta or ovine ruminal fluid. Determinant coefficient was 0,79. *Panicum maximum* and *Cynodon nlemfuensis* reached the highest nutritive value, while *Sporobolus indicus* showed the lowest one.

Key Words: ovine excreta, digestibility, nutritive value

INTRODUCCIÓN

Los rumiantes son importantes para la obtención de alimentos, pues transforman productos que no pueden ser usados por los humanos y otros monogástricos (ej.: forrajes y leguminosas) en alimentos de alta calidad como la leche y carne (Ørskov, 1999; Panin, 2000; Preston, 2003; Moore y Jung, 2001; FAO, 2008).

La importancia práctica de la valoración nutritiva de los alimentos es obvia en relación con la necesaria optimización de su utilización, la producción del rumiante y la eficacia económica de su aplicación; unido a la preservación del medio ambiente y al respeto a los principios de la bioética (Del Toro, 2008), que son cada vez más exigentes en relación con la agresión que muchos métodos de valoración nutritiva hacen a los animales que utilizan.

Los métodos de evaluación de alimentos han sido desarrollados con varios propósitos, uno de los más importantes es su descripción en relación con

su posibilidad de mejorar el rendimiento animal (France *et al.*, 2000).

Dentro de los métodos de valoración nutritiva actualmente usados en la nutrición animal están la degradabilidad ruminal *in situ* o *in sacco* y la técnica de gas *in vitro*.

El empleo de heces como fuente de inóculo para la evaluación *in vitro* de alimentos ha demostrado su utilidad (Akhter y Hossain, 1998; Mauricio *et al.*, 2001; Van Thu, 2003), lo que permite valoraciones similares a las que se obtienen con líquido ruminal y se evita así el estrés y los daños a la integridad física de los animales para la obtención del líquido ruminal.

Martínez (2005), Hernández (2006) y Resillez (2008) han venido desarrollando investigaciones en la provincia de Camagüey, que muestran claramente el potencial de las heces bovinas depuestas como inóculo en la valoración nutritiva de forrajes con empleo de la técnica de producción de gases; sin embargo, los rumiantes mayores representan gastos superiores para su mantenimiento como animales de experimentación, por lo que es

una práctica bastante generalizada la utilización de rumiantes menores, especialmente ovinos. Pero uno de los aspectos que necesita ser investigado con más profundidad, es la utilidad de las heces depuestas de ovinos para la valoración nutritiva de forrajes con la técnica de producción de gas *in vitro*, y su empleo para la valoración nutritiva *in vitro* e *in sacco* de forrajes que servirán para la alimentación de bovinos y otros rumiantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento 1: Dinámica de la producción de gas *in vitro* con líquido ruminal de ovinos.

Se analizaron las muestras pastos tejana (*Paspalum notatum*), estrella (*Cynodon nlemfuensis*), guinea (*Panicum maximum*), pajilla (*Sporobolus indicus*) y leguminosa rastrera (*Desmodium* sp). Se pesaron exactamente unos 200 mg de las muestras secas, colocadas en las jeringas, agitadas cuidadosamente al momento de colocarlas en baño de agua a 39 °C. Se extrajo, con el uso de un sifón, el líquido ruminal de los animales fistulados y se utilizó la dilución con el medio mineral amortiguado de 1 + 2. Las muestras se incubaron por triplicado. El procedimiento general usado para la producción de gas *in vitro* parte de los principios establecidos por Menke *et al.* (1979) con el uso de jeringas de cristal de 100 ml de capacidad y apreciación de 1 ml. Se hicieron lecturas cada dos horas en las primeras 24 h, y después cada 24 h hasta las 96 h.

Experimento 2: Dinámica de la producción de gas *in vitro* con heces ovinas usando nivel de dilución (1 + 3)

Se analizaron las muestras en estudio, con igual proceder que el experimento anterior, solo que cambia el inóculo. Las fuentes de inóculo de heces ovinas depuestas se colectaron en el lugar donde duermen los animales, bajo techo, en horas tempranas de la mañana y con menos de tres horas de haber sido depuestas como sugirieron Akhter *et al.* (1996). Se mezclaron con el medio mineral amortiguado en proporción (1 + 3) y se batieron en licuadora doméstica por aproximadamente un minuto; luego se filtraron a través de malla de material inerte (Dederón) para separar las partículas sólidas (Martínez, 2005). Todo el procedimiento se realizó inyectando CO₂ sistemáticamente para evitar la presencia de oxígeno en contacto con los microorganismos anaerobios estrictos.

El procedimiento usado para la producción de gas *in vitro* fue el mismo que el anterior. Partiendo del trabajo de Pedraza (1998), se ajustó el procedimiento, luego de algunas modificaciones (Martínez 2005), a las condiciones del LABCA. A cada jeringa se le adicionan 30 ml del inóculo. Las muestras se incubaron por triplicado. Se realizaron lecturas de los volúmenes de gas cada tres horas las primeras 24 h y después a las 24, 48 y 72 h de iniciada la corrida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método de producción de gas *in vitro* con el uso de líquido ruminal es algo ya establecido (Ramachandra y Krishnamoorthy, 2000; Van Thu, 2003).

En la Fig. 1 se observa mayor producción de gas que alcanza volúmenes de 25 ml y más desde las 24 h para la leguminosa. Se puede apreciar que el pasto pajilla (*Sporobolus indicus*) tiene menor valor nutritivo *in vitro* que estrella (*Cynodon nlemfuensis*), guinea (*Panicum maximum*) y tejana (*Paspalum notatum*). Es apreciable la similitud en comportamiento de los forrajes para ambos métodos. Las curvas son monótonas para la producción de gas con líquido ruminal.

La diferencia de comportamiento en la dinámica de la producción de gas *in vitro* entre los inóculos provenientes de distintos animales, coincide con reportes de varios autores (Mertens *et al.*, 1997; Rymer *et al.*, 1999; Nagadi *et al.*, 2000; Cone *et al.*, 2002; Tscherning *et al.*, 2002). Según ellos, esa dependencia puede estar relacionada con las características de la dieta de los animales, lo que influye significativamente en la composición microbiana del rumen. Se pueden encontrar variaciones para animales similares, incluso, con inóculo preparado de forma “idéntica” (Bueno *et al.*, 2005).

Producción de gas con líquido ruminal ovino como inóculo

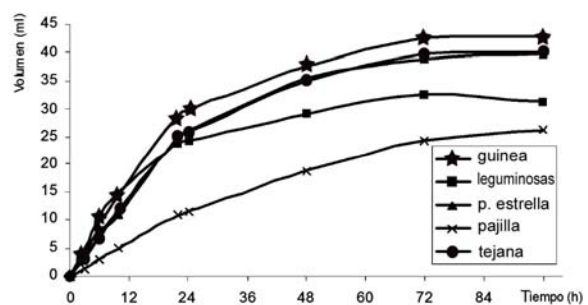


Fig. 1. Producción de gas a diferentes tiempos con el uso de líquido ruminal ovino como inóculo

El sustrato que pasa al intestino grueso difiere del que entra al rumen, debido a que la mayoría de los nutrientes fácilmente digestibles, han sido eliminados y a que se han añadido algunos materiales endógenos como los mucopolisacáridos y las enzimas. En la digestión microbiana del intestino grueso se producen ácidos grasos volátiles que son absorbidos y gases, pero, en general, la digestión en el intestino es menos eficiente que en el rumen (McDonald *et al.*, 2002).

En la Fig. 2 se constata que el comportamiento dinámico de la producción de gas *in vitro* dependerá, sin lugar a dudas, como proceso de crecimiento microbiano que es, del sustrato, del medio y del inóculo (Menke *et al.*, 1979; Mauricio *et al.*, 2001; Martínez, 2005). La cantidad de gas producido por la incubación *in vitro* de un sustrato está íntimamente relacionada con su digestibilidad y por tanto, con su valor energético (Menke y Steingass, 1988; Getachew *et al.*, 2004). La poca diferenciación en la producción de gas en las primeras horas se debe a la necesaria fase de adaptación (*lag*) de los microorganismos al nuevo sustrato (Menke *et al.*, 1979; Mauricio *et al.*, 2001). Luego de esta adaptación, la dinámica de producción de gas dependerá básicamente de la cantidad de ácido producida por los microorganismos a partir de la fuente de carbono ofrecida.

En este caso ocurre igual que en la gráfica anterior en relación con la producción de gas de los pastos, o sea la pajilla (*Sporobolus indicus*) es la que menor cantidad de gas produce, los demás pastos a partir de las 48 h producen más de 5 ml de gas. La gráfica con heces fecales depuestas tiende a ser sigmoïdal.

La cantidad de gas que se produce a las 72 h es inferior cuando se utilizan heces, que cuando se emplea líquido ruminal, lo cual es un comporta-

miento esperado (Mauricio *et al.*, 2001; Cone *et al.*, 2002; Martínez, 2005; Martínez, 2008).

Como explicación de las menores producciones de gas por parte de las heces Mould *et al.* (2005) comunican que la microflora fecal tiene diferentes perfiles hidrolíticos que la del rumen. Estos autores sugieren que se trata más de diferencias cualitativas (metabólicas) que cuantitativas entre los inóculos. Cone *et al.* (2002) llegaron anteriormente a conclusiones semejantes. Todo ello puede estar influenciado por la alimentación de los animales, tanto en composición como en procesamiento; en este trabajo se usan animales alimentados sólo con pastos de mala calidad cualitativa y cuantitativamente.

Los microorganismos del tracto, fuertemente asociados con los desechos del rumen, son también excretados con residuos de alimentos en las heces (Theodorou *et al.*, 1994). La materia fecal se mantiene esencialmente anaeróbica después de depuesta y su microflora es viable por varias horas (Holter, 1991).

Los cultivos inoculados con materia fecal necesitan de más tiempo para alcanzar el potencial de degradación que los que se inoculan con líquido ruminal, pero una vez que alcanzan un determinado umbral, la velocidad de crecimiento es similar en ambos casos. Dhanoa *et al.* (2004) sugieren que una vez que se ha alcanzado la máxima velocidad de degradación, la adición de más microorganismos es inoperante.

En las heces los microorganismos están en un estado de "animación suspendida" debido a la menor cantidad de sustrato: tratan de sobrevivir y disminuyen su actividad metabólica en comparación con el rumen en que están creciendo en un medio rico en sustratos (Cone *et al.*, 2002).

En la Fig. 3 se aprecia que existe correlación positiva entre los volúmenes de gas acumulados cuando se usa líquido ruminal y heces ovinas depuestas, lo que refuerza la idea de que estas últimas pueden ser utilizadas como inóculo (Martínez, 2008).

Aiple *et al.* (1992) describieron una modificación del método de Tilley y Terry (1963) usando una suspensión de excretas (heces) de oveja como fuente de inóculo para efectuar la digestión *in vitro*, mediante la producción de gas. Más tarde Akhter *et al.* (1999) en trabajos comparativos entre heces de vacas y líquido ruminal de ovejas, concluyen que las deposiciones pueden ser una al-

Producción de gas *in vitro* con heces ovinas

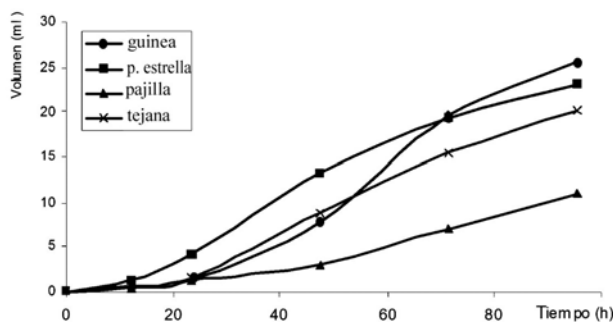
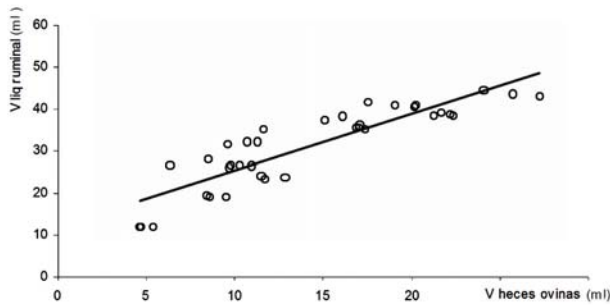


Fig. 2. Producción de gas a diferentes tiempos con el uso de heces ovinas como inóculo

Volumen de gas con el uso de líquido ruminal y su relación con el de heces ovinas



n = 36; r² = 0,78; P < 0,01

Fig. 3. Relación entre el volumen de gas con heces ovinas y el líquido ruminal ovino

ternativa para la evaluación de la digestibilidad *in vitro* de forrajes.

CONCLUSIONES

Las heces ovinas depuestas pueden ser utilizadas como inóculo en la técnica de producción de gases para la valoración nutritiva *in vitro* e *in sacco* de forrajes para la alimentación de rumiantes.

Existieron correlaciones positivas y significativas entre producción de gas con heces ovinas con la producción de gas usando líquido ruminal de ovinos.

Las dinámicas de producción de gas *in vitro* con líquido ruminal ovino y heces ovinas depuestas, definen que los forrajes evaluados se ordenan de mayor a menor valor nutritivo de manera muy similar a la obtenida en la degradabilidad ruminal.

REFERENCIAS

AIPLE, H.; STEINGASS y MENKE, K. H. (1992). Suitability of a Buffered Fecal Suspension as The Inoculum in the Hohenheim Gastes. *Anim. Nutr.*, 67, 57-66.

AKHTER, S. y HOSSAIN, M. M. (1998). Cow Faeces *in vitro* Digestibility Assays of Forages. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 11 (1), 51-54.

AKHTER, S.; OWEN, E. y HOSSAIN, M. M. (1996). Use of Cow Faeces at Different Times after Being Voided as a Source of Micro-Organisms *in vitro* Digestibility Assays of Forages. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 9 (4), 371-374.

AKHTER, S.; OWEN, E.; THEODOROU, M. K.; BUTLER, E. A. y MINSON, D. J. (1999). Bovine Faeces as a Source of Micro-Organisms for the *in vitro* Digestibility Assay of Forages. *Blackwell Science Ltd, Grass and Forage Science*, 54, 219-226.

BUENO, I. C.; CABRAL FILHO, S. L.; GOBBOA, S. P.; LOUVANDINI, H.; VITTI, D. M y ABDALLA, A. L. (2005). Influence of Inoculum Source in a Gas Pro-

duction Method. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124 y 95-105.

CONE, J. W.; VAN GELDER, A. H. y BACHMANN, H. (2002). Influence of Inoculum Source on Gas Production Profiles. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 99, 221-231.

DEL TORO, A. (2008). *Estrategia curricular de formación bioética para el desarrollo humano sostenible*. Tesis de doctorado en Ciencias Pedagógicas, Universidad de Camagüey, Cuba.

DHANOA, M. S.; FRANCE, J.; CROMPTON, L. A.; MAURICIO, R. M.; KEBREAB, E.; MILLS, J. A. N.; SANDERSON, R.; DIJKSTRA, J. y LÓPEZ, S. (2004). Technical Note: A Proposed Method to Determine the Extent of Degradation of a Feed in the Rumen from the Degradation Profile obtained with the *in vitro* Gas Production Technique Using Feces as the Inoculum. *J. Anim. Sci.*, 82, 746.

FAO. (2008). *Ayudando a desarrollar una ganadería sustentable en Latinoamérica y el caribe: lecciones a partir de casos exitosos*. Chile, Santiago de Chile: Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

FRANCE, J.; THEODOROU, M. K.; LOWMAN, R. S. y BEEVER, D. E. (2000). Feed Evaluation for Animal Production. En Theodorou, M. K. y France, J. (Eds.). *Feeding Systems and Feed Evaluation Models*. Wallingford, UK: CAB International.

GETACHEW, G.; DEPETERS, E. y ROBINSON, P. (2004). *In vitro* Gas Production Provides Effective Method for Assessing Ruminant Feeds. *California Agriculture, Jan-Mar*. Extraído en febrero 2009, desde <http://www.bioparametrics.com/Pdf/Neil%20Jesso%20Publications.pdf>.

HERNÁNDEZ, J. E. (2006). *Valoración de la caprinocultura en la mixteca poblana: socioeconomía y recursos arbóreo-arbustivos*. Tesis de doctorado en Ciencias Veterinarias, Universidad de Camagüey, Cuba.

HOLTER, P. (1991). Concentration of Oxygen, Carbon-Dioxide and Methane in the Air within Dung Pats. *Pedobiología*, 35, 381-386.

MARTÍNEZ, S. J. (2005). *Implementación de la técnica de producción de gas in vitro con heces vacunas como inóculo y su empleo para evaluar el follaje de algunas leguminosas arbustivas*. Tesis de maestría en Producción Bovina Sostenible, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, Cuba.

MARTÍNEZ, S. J. (2008). *Heces vacunas depuestas como inóculo en la técnica de producción de gases para la valoración nutritiva in vitro de forrajes*. Tesis de doctorado en Ciencias Veterinarias, Universidad de Camagüey, Cuba.

- MAURICIO, R. M.; OWEN, E.; MOULD, F. L.; GIVENS, D. I.; THEODOROU, M. K.; FRANCE, D.; DAVIES R. y DHANOA, M. S. (2001). Comparison of Bovine Rumen Liquor and Bovine Faeces as Inoculum for an *in vitro* Gas Production Technique for Evaluating Forages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 89, 33-48.
- MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D. y MORGAN, C. A. (2002). Evaluation of Foods. Digestibility. En *Animal Nutrition* (Sixth Edition). Pearson. Prentice-Hall.
- MENKE, K. H. y STEINGASS, H. (1988). Estimation of the Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and *in vitro* Gas Production Using Rumen Fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.
- MENKE, K. H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A.; STEINGASS, H.; FRITZ, D. y 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 *in vitro*. *J. agric. Sci.*, 93, 217-222.
- MERTENS, D. R.; WEIMER, P. J. y WAGHORN G. C. (1997). Inocula Differences Affect *in vitro* Gas Production Kinetics. *Research Summaries*. Extraído el 16 de agosto de 2008, desde www.dfrc.wisc.edu/RS97pdfs/RM2.pdf.
- MOORE, K. J. y JUNG, H. J. G. (2001). Lignin and Fiber Digestion. *Journal of Range Management*, 54, 420-429.
- MOULD, F. L.; MORGAN, R.; KLIEM, K. E. y KRYSTALLIDOU, E. (2005). A Review and Simplification of the *in vitro* Incubation Medium. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124, pp. 155-172.
- NAGADI, S.; HERRERO, M. y JESSOP, N. S. (2000). The Influence of Diet of the Donor Animal on the Initial Bacterial Concentration of Rumenal Fluid and *in vitro* Gas Production Degradability Parameters. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 87, 231-239.
- ØRSKOV, E. R. (1999). *Nutrición de rumiantes*. Curso de Posgrado. Universidad de Camagüey, Cuba.
- PANIN, A. (2000). A Comparative Economic Analysis of Smallholder Cattle and Small Ruminant Production Systems in Botswana. *Tropical Animal Health and Production*, 32 (3), 189-196.
- PEDRAZA, R. M. (1998). *Use of in vitro Gas Production Technique to Assess the Contribution of Both Soluble and Insoluble Fractions on the Nutritive Value of Forages*. MSc thesis, University of Aberdeen, Scotland.
- PRESTON, T. R. (2003). *Producción Agropecuaria Sostenible: crisis u oportunidad*. Taller Internacional: Ganadería, desarrollo sostenible y medio ambiente, marzo, La Habana.
- RAMACHANDRA, B. y KRISHNAMOORTHY, U. (2000). Evaluation of Some Feeds by *in vitro* Gas Production. *Indian Veterinary Journal*, 77 (11), 976-978.
- RESILLEZ, P. A. (2008). *Producción de gases con heces vacunas depuestas como inóculo para predecir la degradabilidad in situ de forrajes*. Tesis de maestría en Producción Bovina Sostenible, Universidad de Camagüey, Cuba.
- RYMER, C.; HUNTINGTON, J. A. y GIVENS, D. I. (1999). Effects of Inoculum Preparation Method and Concentration, Method of Inoculation and Pre-Soaking the Substrate on the Gas Production Profile of High Temperature Dried Grass. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 78, 199-213.
- THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; MCALLAN, A. B. y FRANCE, J. (1994). A Simple Gas Production Method Using a Pressure Transducer to Determine the Fermentation Kinetics of Ruminant Feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48, 185-197.
- TILLEY, J. M. A. y TERRY, R. A. (1963). A Two Stage Technique for the *in vitro* Digestion of Forage Crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18, 104-111.
- TSCHERNING, K.; BARRIOS, E.; LASCANO, C.; PETERS, M. y SCHULTZE-KRAFT, R. (2002). *Comparison of Aerobic and Anaerobic Methods to Assess Quality of Tropical Multipurpose Shrub Legumes*. Extraído el 10 de agosto de 2009, desde <http://mars.wiz.uni-kas-sel.de/tropentag/proceedings/2002/html/node153>.
- VAN THU, N. (2003). Effect of Different Strategies of Treated Rice Straw on Nutrients and *in vitro* OM Digestibility by Using Rumen Fluid or Faecal Inocula of Local Cattle; En Reg Preston y Brian Ogle (Eds). *Proceedings of Final National Seminar-Workshop on Sustainable Livestock Production on Local Feed Resources*. Hue City: HUAF-SAREC. Extraído en abril de 2009, desde <http://www.mekarn.org/sarec03/thu2.htm>
- VAN THU, N. (2003). Inoculum from Sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124, 81-94.

Recibido: 3-9-2012

Aceptado: 3-10-2012