

## Correlación degradabilidad ruminal *in situ* y producción de gas *in vitro* con el uso de heces vacunas depuestas como inóculo

Silvio J. Martínez Sáez, Redimio M. Pedraza Olivera, Alex Resíllez Pujal, Guillermo Guevara Viera, Cecilia E. González Pérez y Marlene León González

Centro de Estudios para el Desarrollo de la Producción Animal (CEDEPA), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey

silvio.martinez@reduc.edu.cu

### RESUMEN

Con el fin de evaluar la correlación entre la degradabilidad ruminal *in situ* y la producción de gas *in vitro*, con el uso de heces vacunas depuestas, se estudiaron muestras de *Leucaena leucocephala*, *Pennisetum purpureum* y *Panicum maximum* que se incubaron por 8; 16; 24; 48; 72 y 96 h en el rumen de dos toros mestizos adultos, fistulados en el saco dorsal, los cuales pastaban durante aproximadamente 10 horas del día y permanecían estabulados el resto del tiempo. Como inóculo para la producción de gas se usaron heces vacunas —con menos de tres horas de haber sido depuestas— mezcladas en proporción 1 + 3 con medio mineral amortiguado. El gas producido se recogió en jeringas graduadas de 100 mL. Con los datos de volumen-tiempo se estimaron los parámetros: fase lag (L), potencial de producción de gas B y velocidad de degradación C. La producción de gas (B) resultó menor para *P. maximum* ( $P < 0,01$ ) y C mayor para *L. leucocephala*. Existe una relación lineal ( $P < 0,01$ ) entre la producción de gas *in vitro* y la degradabilidad ruminal *in situ*, lo que sugiere la posibilidad de usar la primera de estas técnicas para hacer predicciones de digestibilidad sin dañar el bienestar de los animales.

**Palabras clave:** producción de gas *in vitro*, degradabilidad *in situ*, heces, correlación

### Correlation Between *in situ* Rumen Degradability and *in vitro* Gas Production When Using Bovine Feces as Inoculum

#### ABSTRACT

With the aim of assessing the correlation between *in situ* rumen degradability and *in vitro* gas production using bovine feces, dried samples of *Leucaena leucocephala*, *Pennisetum purpureum*, and *Panicum maximum* were incubated during 8; 16; 24; 48; 72, and 96 h within the rumen of two cross-bred adult bulls, fistulated at the dorsal rumen sac, which grazed about 10 hours/per day and remained stabled the rest of the time. As inoculum for gas production, fresh feces with less than 3 hours of being voided, mixed with a buffered mineral medium in a 1 + 3 rate were used. The produced gas was collected in 100 mL gauged syringes. The lag time, potential volume of gas (B), and rate of degradation parameters (C) were estimated. By these volume-time data B value is smaller for *P. maximum* and C value is greater for *L. leucocephala*. There is a linear correlation ( $P < 0,01$ ) between *in vitro* gas production with already voided feces and *in situ* rumen degradability which suggests the possibility of using the former technique in predicting digestibility without affecting animals condition.

**Key words:** *in vitro* gas production, *in situ* degradability, feces, correlation

### INTRODUCCIÓN

Una de las aplicaciones de los procedimientos analíticos para la evaluación de alimento destinado a los animales es la predicción de su digestibilidad. Entre las técnicas dinámicas, la degradabilidad ruminal *in situ* (Mehrez y Ørskov, 1977) es posiblemente la más comúnmente usada y su posibilidad de predecir la digestibilidad *in vivo*, e incluso el consumo, ha sido reportada en varios trabajos (Ørskov y McDonald, 1979; Ørskov, 2000; Ahmed y El-Hag, 2004, Cone *et al.*, 2005).

Este método tiene, sin embargo, los inconvenientes de necesitar animales fistulados y de que

la cantidad de muestras que se pueden manejar es limitada.

Los orígenes de las técnicas de gas *in vitro* se vinculan con el hecho de que Menke *et al.* (1979) encontraron que la producción de gas acumulada en 24 horas estuvo bien correlacionada con la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo*. La producción de gas puede predecir la degradación efectiva de la materia orgánica *in situ* (Deaville y Givens, 1998). Dhanoa *et al.* (2004) determinaron el nivel de degradación en el rumen de un alimento a partir del perfil de producción de gas *in vitro* empleando heces como inóculo. En fecha reciente se siguen reportando aplicaciones de la técnica

clásica de producción de gas *in vitro* en árboles y arbustos (Gurbuz, 2006; Hernández, 2006). En los casos anteriores se trabajó fundamentalmente con líquido ruminal, o heces tomadas del recto, lo que de hecho también implica el uso de animales fistulados o de experimentación.

En el presente trabajo se muestra la correlación existente entre la degradabilidad ruminal *in situ* y la producción de gas *in vitro* de tres forrajes, con el uso de heces vacunas depuestas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los forrajes estudiados fueron: *Leucaena leucocephala* (leucaena), *Pennisetum purpureum* (king grass) y *Panicum maximum* (guinea). Todas las muestras se obtuvieron en la Finca Taburete, perteneciente a la Universidad de Camagüey, localizada a los 21°, 3' N y 78°, 51' O. Éstas fueron secadas a 65 °C en estufa con circulación forzada de aire y molidas hasta pasar por un tamiz de 3 mm para la degradabilidad ruminal y de 1 mm para la producción de gas.

La degradabilidad ruminal de la materia seca se determinó por la técnica de la bolsa en rumen, de acuerdo con el procedimiento descrito por Mehrez y Ørskov (1977) y las recomendaciones para el estudio de forrajes realizadas por Ørskov *et al.* (1980). Se utilizaron bolsas de nailon con aproximadamente 5 g de muestra seca que se incubaron por triplicado durante 8; 16; 24; 48; 72 y 96 h en el rumen de dos toros mestizos (Holstein x Cebú), adultos y de edad y peso similar, fistulados en el saco dorsal, que pastoreaban en una mezcla de pastos naturales y artificiales (guinea 60 %, tejana 15 %, pasto estrella 13 %, leguminosas rastreras 5 % y otras 7 %) entre las 7:30 a.m. y las 5:00 p.m. Los animales no se suplementaron y disponían de agua *ad libitum*. Durante la noche se mantenían estabulados y sin otros alimentos. En todos los casos se trabajó con tres réplicas por tratamiento.

Como inóculo para la producción de gas se usaron heces vacunas de los mismos animales con menos de tres horas de haber sido depuestas, mezcladas en proporción 1 + 3 con medio mineral amortiguado. El volumen del gas se midió en jeringas de 100 mL a las 3; 6; 12; 24; 48; 72 y 96 h (Martínez, 2005).

Para eliminar el sesgo por cambio de inóculo entre una y otra corrida, se empleó siempre una muestra de referencia o estándar interno.

Los datos se ajustaron siguiendo el criterio de Correa (2004):

$$V = 0 \quad \text{para } t \leq L \quad (1)$$

$$V = B \times (1 - \text{EXP}(-C \times t)) \quad \text{para } t > L \quad (2)$$

Donde:

V – volumen de gas producido (mL).

t – tiempo (h).

L – fase lag (h).

B (mL) y C (h<sup>-1</sup>) son parámetros del modelo de Ørskov y McDonald (1979) y representan el potencial de gas a producir y la velocidad específica de crecimiento de la fase exponencial, respectivamente.

Los análisis de correlación con los datos de degradabilidad ruminal se llevaron a cabo: 1) con el uso de los valores para 8; 16; 24; 48; 72 y 96 h sin procesar por el modelo (los valores para las 8 y 16 horas se obtuvieron por interpolación lineal de las lecturas entre 6; 12 y 24), y 2) con la utilización de los valores calculados para 8; 16; 24; 48 y 72 h a partir de finalizado el tiempo correspondiente a la fase lag, obtenido por el ajuste del modelo anterior. Se utilizaron los datos de degradabilidad y producción de gas de cada animal, que en su conjunto se añadieron al estudio de correlación.

Para determinar los parámetros de mejor ajuste se utilizó el programa Solver de Microsoft Excel®, 2004. Los valores de r<sup>2</sup> y el error estándar fueron calculados con el uso de funciones de este mismo software. La comparación entre medias se hizo con el paquete SYSTAT®, 2003.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la producción de gas *in vitro* no se aprecia diferencia estadísticamente significativa entre los animales fistulados para los volúmenes de gas de los forrajes estudiados a las 24; 48; 72 y 96 h. Esto puede deberse a que la alimentación no fue esencialmente diferente.

Para la degradabilidad ruminal hay diferencia entre los toros (P < 0,01) lo que indica que, en este caso, resultó más sensible al factor animal para la degradabilidad *in situ* que para la producción de gas *in vitro*, aspecto descrito tradicionalmente en la literatura; por ello Ørskov y Ryle (1990) y Ørskov (2000) han insistido que para ordenar alimentos, lo más adecuado es usar réplicas dentro de cada animal y para evaluar ambiente ruminal, son más importantes las réplicas entre animales; por ello, en esta investigación se emplearon los datos de degradabilidad y producción de gas de

cada animal, que en su conjunto se añaden al estudio de correlación.

En la Figura 1 se muestran las variaciones en el tiempo del por ciento de degradabilidad ruminal *in situ* y el volumen de gas (mL/200 mg de MS) producido *in vitro* con el uso de heces como inóculo.

Es importante apreciar (Figura. 1) la similitud en comportamiento de los forrajes para ambos métodos. Para el volumen de gas a las 24; 48 y 72 h después de terminada la fase *lag*, tanto con el uso de la degradabilidad ruminal *in situ* como con la producción de gas con heces como inóculo, se puede lograr un ordenamiento de los forrajes y apreciar que *L. leucocephala* produce más que *P. purpureum* y este a su vez más que *P. maximum* ( $P < 0,01$ ).

Entre las técnicas dinámicas, la digestibilidad ruminal *in situ* es posiblemente la más comúnmente usada y su posibilidad de predecir la digestibilidad *in vivo* ha sido ampliamente reportada (Ørskov y McDonald, 1979; Ørskov, 2000; Ahmed y El-Hag, 2004, Cone *et al.*, 2005). Según Adesogan *et al.* (2005) las técnicas de degradabilidad ruminal *in situ* miden la velocidad y extensión de la degradación de los alimentos, pero no tienen en cuenta la digestión de pequeñas partículas o fracciones solubles y son además, como ya se ha expresado, más invasivas para los animales.

En cuanto a los parámetros de mejor ajuste al modelo utilizado y los forrajes, el parámetro C es mayor para *L. leucocephala*, lo que coincide con

la apreciación de otros autores de que dicho parámetro es en general mayor en las leguminosas (Ahmed y El-Hag, 2004).

Las Figs. 2 a y b muestran la correlación general entre el por ciento de degradabilidad ruminal de la materia seca y el volumen de gas producido. Es posible apreciar que hay una correlación significativa con buena determinación ( $r^2 = 0,68$  y  $r^2 = 0,85$ , respectivamente) entre ambos parámetros en el tiempo; sin embargo, si se observa la correlación entre ambos métodos a partir de los valores originales (Fig. 2 a), el coeficiente es numéricamente menor ( $r^2 = 0,68$ ) y existe un punto de ruptura en la región donde la curva de producción de gas tiene un cambio de pendiente; antes de este punto el comportamiento es uno y después es otro, mientras que no ocurre así si se correlacionan los datos calculados a partir del tiempo correspondiente a la fase *lag* (Figura 2 b) obtenido por ajuste al modelo bifásico. Dhanoa *et al.* (2004), en su propuesta de un método para determinar degradabilidad en rumen, a partir de datos de gas *in vitro* con heces tomadas del recto como inóculo, encontraron la existencia de un punto de ruptura; ellos estimaron el tiempo *lag* con el uso de un procedimiento gráfico.

La posibilidad de utilizar una simple ecuación de primer grado (% degradabilidad =  $m * V + b \pm ESE$ ) para predecir la degradabilidad a partir del volumen obtenido, para un tiempo dado, con el uso de la técnica de gas *in vitro* y heces vacunas depuestas como inóculo, pudiera dar estimaciones más apropiadas.

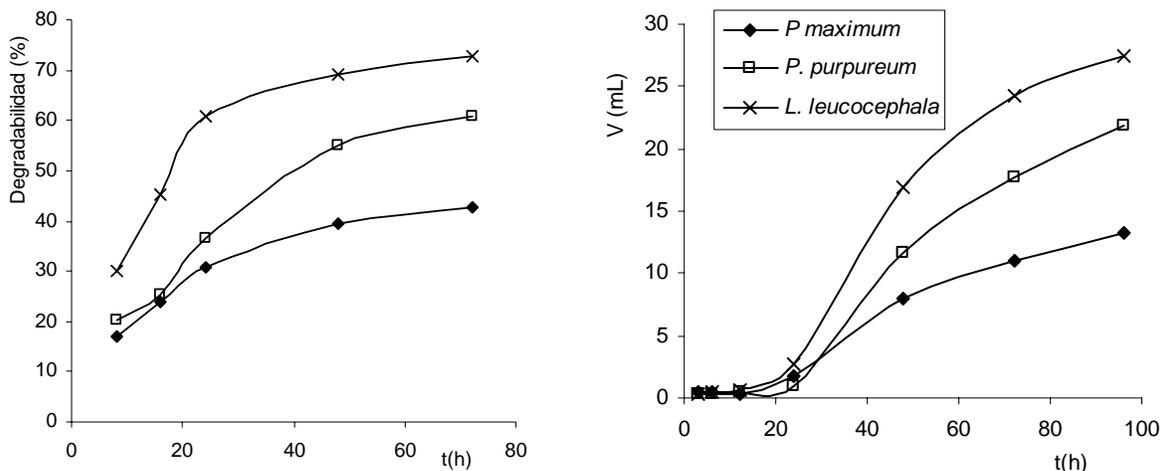
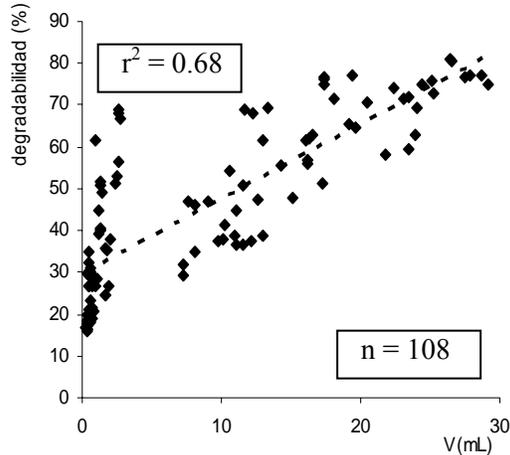
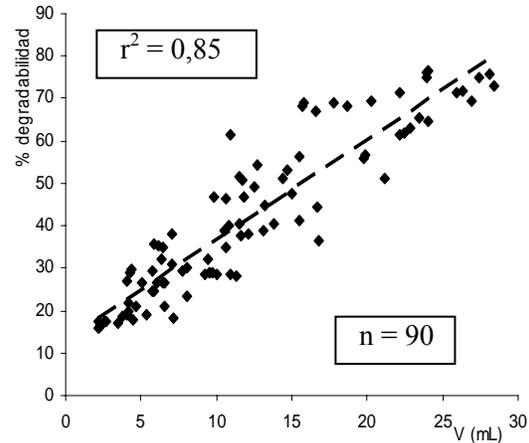


Figura 1. Dinámicas de la degradabilidad ruminal y la producción de gas



$$\% \text{ degrad} = 29,6 + 1,8 * V \text{ (ESE=11,4; } P < 0,01)$$

a



$$\% \text{ degrad} = 13,2 + 2,4 * V \text{ (ESE=7,4; } P < 0,01)$$

b

**Figura 2. Relación entre la degradabilidad ruminal de la materia seca y el volumen de gas acumulado.**

a) datos originales de gas producido; b) calculados considerando tiempo 0 el final de la fase lag.

## CONCLUSIONES

La degradabilidad ruminal y la producción de gas indican que el valor nutritivo es superior en *L. Leucocephala*, seguido de *P. purpureum* y *P. maximum*.

Existe una correlación lineal ( $P < 0,01$ ) entre la producción de gas *in vitro* con heces vacunas depuestas y la degradabilidad ruminal *in situ* lo que sugiere la posibilidad de usar la primera de estas técnicas para hacer predicciones de digestibilidad sin dañar el bienestar de los animales.

## REFERENCIAS

- ADESOGAN, A. T.; N. K. KRUEGER y S. C. KIMA: "A novel, Wireless, Automated System for Measuring Fermentation Gas Production Kinetics of Feeds and its Application to Feed Characterization", *Animal Feed Science and Technology*, (123-124): 211-223, 2005.
- AHMED, M. M. M. y F. M. EL-HAG: "Degradation Characteristics of some Sudanese Forages and Tree Pods Using *in situ* and Gas Production Techniques", *Small Ruminant Research*, 54: 147-156, 2004.
- CONE, J. W.; A. W. ONGBLOED, A. H. Van GELDER y L. DE LANGE: "Estimation of Protein Fermentation in the Large Intestine of Pigs Using a Gas Production Technique", *Animal Feed Science and Technology*, (123-124): 463-472, 2005.
- CORREA, H. y J. RUMENAL: "Procedimiento para estimar los parámetros de cinética ruminal mediante la

función Solver de Microsoft Excel", *Rev. Col. Cienc. Pec.*, 17: 3, 2004.

- DEAVILLE, E. R. y D. L. GIVENS: Estimation of Rumen Degradable Organic Matter of Forages Using Different Techniques, *Proceedings of the British Society of Animal Science*, Scarborough, p. 57, 1998.
- DHANO, M. S.; J. FRANCE, L. A. CROMPTON, R. M. MAURICIO, E. KEBREAB; J. A. N. MILLS, R. SANDERSON, J. DIJKSTRA y S. LÓPEZ: "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 (3): 733-746, 2004.
- GURBUZ, Y.: Determination of Nutritive Value of Leaves of Several *Vitis vinifera* Varieties as a Source of Alternative Feedstuff for Sheep Using *in vitro* and *in situ* Measurements, *Small Ruminant Research*, disponible en 10.1016/j. smallrumres.2006.04.009. (Consulta: agosto de 2006).
- Hernández, J. E.: Valoración de la caprinocultura en la Mixteca Poblana: socioeconomía y recursos arbóreo-arbustivos, p. 113, tesis en opción al grado de doctor en Ciencias Veterinarias, Universidad de Camagüey, 2006.
- Martínez, S. J.: 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, p. 73, tesis para optar por el título de máster en Producción Bovina Sostenible, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Camagüey, 2005.

Correlación degradabilidad ruminal *in situ* y producción de gas *in vitro* con el uso de heces vacunas depuestas como inóculo

- MEHREZ, A. Z. y E. E. ØRSKOV: "The Use of a Dacron Bag Technique to Determine Rate of Degradation of Protein and Energy in the Rumen", *J. Sci. Agric. Camb.*, 88: 645-650, 1977.
- MENKE, K. H.; L. RAAB, A. SALEWSKI, H. STEINGASS, D. FRITZ y W. SCHNEIDER: "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, 1979.
- ØRSKOV, E. R. e I. MCDONALD: "The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Incubation Measurements Weighted according to Rate of Passage", *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 92: 499-503, 1979.
- ØRSKOV, E. R.; F. D. HOVELL, F. D. DEB y F. L. MOULD: "The Use of the Nylon Bag Technique for the Evaluation of Feedstuffs", *Tropical Animal Production*, 5: 195-213, 1980.
- ØRSKOV, E. R. y M. RYLE: *Energy Nutrition in Ruminants*, p.149, Elsevier, Barking, UK, 1990.
- ØRSKOV, E. R.: The *in situ* Technique for the Estimation of Forage Degradability in Ruminants, Forage Evaluation in Ruminant Nutrition, pp. 175-188, CAB International, Wallingford, UK, 2000.

Recibido: 12/1/2008

Aceptado: 3/4/2008