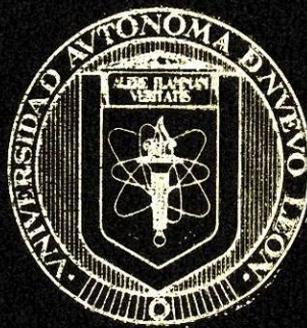


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



OBTENCION DE ESTANDARDS PARA AJUSTES  
DE DIGESTIBILIDAD in vitro

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

PRESENTA

JORGE ROMAN NAVA ORTIZ

MARIN, N. J.

DICIEMBRE DE 1984

F

SF97

N3

C.1



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



OBTENCION DE ESTANDARDS PARA AJUSTES  
DE DIGESTIBILIDAD in vitro

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

PRESENTA

JORGE ROMAN NAVA ORTIZ

MARIN, N. L.

DICIEMBRE DE 1984

6493 *San*

Clasif  
T  
SF 97  
U3

040.636  
FA27  
1984  
c.5



Biblioteca Central  
Magna Solidaridad

X/55



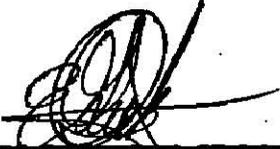
UANV  
FONDO  
TESIS LICENCIATURA

OBTENCION DE ESTANDARDS PARA AJUSTES  
DE DIGESTIBILIDAD in vitro

TESIS PRESENTADA POR JORGE ROMAN NAVA ORTIZ,  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO  
DE INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

COMITE DE REVISION

A: PRINCIPAL:

  
\_\_\_\_\_  
ING. M.C. ERASMO GUTIERREZ ORNELAS

ASESOR AUXILIAR:

  
\_\_\_\_\_  
ING. M.C. FELIPE DE JESUS CARDENAS GUZMAN

MARIN, NUEVO LEON

15 DE DICIEMBRE DE 1984.

GRACIAS A DIOS.

A MIS PADRES:

SR. ROMAN NAVA SANCHEZ

SRA. CANDELARIA ORTIZ DE NAVA.

Por todo su apoyo y la confianza que ellos mostraron, lo cual hizo la culminación de mi carrera.

A MIS HERMANOS:

RAYMUNDO

SILVIA

VIRGINIA

CESAR

JUAN ANTONIO

JUAN MANUEL

LULY

MARIO

A MIS FAMILIARES:

Por toda la ayuda brindada durante mis estudios.

A MIS ASESORES:

ING. M.C. ERASMO GUTIERREZ ORNELAS

ING. M.C. FELIPE DE JESUS CARDENAS G.

Por la acertada dirección e interés  
mostrado durante la trayectoria del  
presente trabajo.

MI AGRADECIMIENTO A:

Q.I. ROSARIO MIRELES DE SALCEDO

ING. MA. DEL CARMEN RUSSILDI G.

Por su ayuda brindada durante  
la realización de este trabajo.

A LOS MAESTROS Y COMPAÑEROS  
DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA.

# I N D I C E

	Página
1. INTRODUCCION .....	1
2. REVISION DE LITERATURA .....	4
2.1 Consideraciones Generales .....	4
2.1.1 Digestión .....	4
2.1.2 Digestibilidad .....	4
2.1.3 Digestibilidad aparente .....	5
2.1.4 Digestibilidad verdadera .....	5
2.2 Métodos usados en la determinación de la digestibilidad .....	6
2.2.1 Métodos <u>in vivo</u> .....	6
2.2.1.1 Recolección total de heces ....	7
2.2.1.2 Método de indicadores .....	8
a) Oxido crómico .....	9
b) Lignina .....	11
c) Cromógenos .....	13
d) Nitrógeno fecal .....	14
2.2.2 Método de la bolsa de Nylon ( <u>in --</u> <u>situ</u> ) .....	16
2.2.3 Método <u>in vitro</u> .....	18
2.2.3.1 Importancia de los estándar-- dards .....	21

2.2.4 Otros métodos de fermentación - <u>in vitro</u> .....	24
2.2.5 Predicción de la digestibilidad basándose en la composición quí- mica .....	25
3. MATERIALES Y METODOS .....	29
Experimento 1. Determinación de la diges- tibilidad <u>in vivo</u> .....	30
Experimento 2. Determinación de la diges- tibilidad <u>in vitro</u> .....	32
4. RESULTADOS Y DISCUSION .....	33
Experimento 1. Determinación de la diges- tibilidad <u>in vivo</u> .....	33
Experimento 2. Determinación de la diges- tibilidad <u>in vitro</u> .....	35
4.1 Correlaciones entre digestibilidad <u>in</u> <u>vivo</u> e <u>in vitro</u> .....	41
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	43
6. RESUMEN .....	
7. BIBLIOGRAFIA .....	47

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Digestibilidad <u>in vivo</u> e <u>in vitro</u> de la materia seca de brassicas y plantas de maíz, realizadas en dos laboratorios .....	22
2.	Digestibilidad <u>in vivo</u> de la materia seca y de la materia orgánica en forraje de maíz cortado a diferentes etapas .....	33
3.	Digestibilidad <u>in vitro</u> de la materia seca y de la materia orgánica en forraje de maíz cortado a diferentes etapas .....	35
4.	Ecuación de regresión para la digestibilidad de la materia seca (M.S.) ...	41
5.	Ecuación de regresión para la digestibilidad de la materia orgánica - - (M.O.) .....	42

## I. INTRODUCCION

La importancia de desarrollar métodos para determinar el valor nutritivo de los alimentos para la producción animal, está indicada por el número elevado de laboratorios -- que, en muchos lugares del mundo, se encuentran trabajando.

Es imprescindible en nutrición el conocimiento de técnicas que permitan medir la contribución de los alimentos -- para cubrir los requisitos nutritivos del animal. Las técnicas de laboratorio para la evaluación de las pasturas, pueden ser aplicables directamente al agricultor, en el sentido de que el análisis de su alimento disponible pueda formar la base para un programa de alimentación, que le indicaría las cantidades y los tipos de suplemento que debe disponer para sus animales.

El valor nutritivo de un alimento debe ser medido en -- términos de producción de leche, carne o lana que se consigue cuando este es ofrecido al animal. Sin embargo, esta medida es difícil de conseguir en la práctica. Su dificultad se manifiesta en el tiempo y costos de estos experimentos, los cuales generalmente requieren elevadas cantidades de -- alimento.

Para la evaluación de los forrajes existen diferentes métodos, los cuales han sido desarrollados y modificados para mejorar la confianza de los mismos, estas modificaciones han sido introducidas a menudo con la idea de imitar aún -- más el proceso in vivo.

Para la evaluación de los alimentos, las técnicas in vivo son casi siempre las preferidas, pero presentan el inconveniente de que son costosas, requieren una gran cantidad de alimento y tiempo. Por lo que una alternativa para sustituir estas técnicas en la evaluación de los alimentos es el uso de las técnicas de laboratorio. Respecto a la estimación de la digestibilidad, podemos observar la propuesta por Tilley y Terry (1963), los cuales con su técnica -- descrita tiende a simular lo que ocurre en el aparato digestivo de los rumiantes, sin embargo, debemos de disponer de métodos por los cuales a partir de una estimación en el laboratorio podamos extrapolar más acertadamente esta estimación a resultados in vivo. Para el caso de la técnica de la digestibilidad in vitro en cada evaluación se deben de incluir muestras standard.

El hecho de poseer muestras standard de digestibilidad in vivo conocida estriba en la posibilidad de predecir valores in vivo a partir de los resultados in vitro y además para que los valores obtenidos en diferentes laboratorios, puedan ser comparables.

En virtud de que en nuestra facultad no se cuentan -- con dichos standards y en general es difícil obtenerlos -- de otros centros, se realizó el presente trabajo cuyos objetivos fueron los siguientes:

- 1) Dotar al laboratorio de bromatología de muestras standard útiles en la determinación de la digestibilidad.

2) Utilizar cabras como animales experimentales y observar su comportamiento en el estudio.

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Consideraciones Generales.

#### 2.1.1 Digestión.

Para que un alimento pueda ser absorbido por el tubo digestivo de los animales y utilizado por el organismo, -- tiene que sufrir cambios importantes que se conocen con el nombre de digestión.

La digestión comprende todas las modificaciones que -- sufre el alimento en el tubo digestivo y que lo preparan -- para que pueda ser absorbido y utilizado por el organismo (Morrison, 1965). El agua, la glucosa, la sal común y algunas otras sustancias no necesitan ningún cambio para ser -- absorbidas.

El trabajo mecánico se desarrolla por la masticación y las constricciones musculares del aparato digestivo.

La acción química se lleva a cabo por las diversas enzimas segregadas con los jugos digestivos cuya acción es -- hidrolizar los alimentos, la cual consiste en el rompimiento de moléculas grandes, de esta manera cada molécula de -- gran tamaño es reducida gradualmente a moléculas más pequeñas.

#### 2.1.2 Digestibilidad.

El término de digestibilidad es tomado normalmente para indicar que los nutrientes y sustancias afines son ab--

sorbidos del tracto digestivo una vez atacados por alguna enzima digestiva o desintegrados por la microflora (Crampton y Harris, 1974).

Mc Donald et al. (1969), define la digestibilidad de un alimento como la proporción de este que no es excretado con las heces y que se supone, por lo tanto, que ha sido absorbido.

### 2.1.3 Digestibilidad Aparente.

Para conocer la digestibilidad aparente de los distintos alimentos de una dieta, se administran a los animales de experimentación una ración y, mediante análisis de las heces, se determinan las correspondientes cifras a sustraer de los alimentos. Los nutrientes no evidenciados de nuevo en las heces se consideran digeridos. Sin embargo, en las heces también aparecen en realidad productos propiamente del metabolismo orgánico. De aquí que los valores obtenidos en una simple experiencia de digestibilidad constituyan la digestibilidad aparente (Bergner, 1970).

Crampton y Harris (1974), definen la digestibilidad aparente de la materia seca o de algún nutriente constituyente de los alimentos como aquella fracción de la ingesta que no es recobrada en las heces. Cuando esta fracción no recuperada se expresa como porcentaje de la ingesta, recibe el nombre de coeficiente de digestibilidad.

### 2.1.4 Digestibilidad Verdadera.

Crampton y Harris (1974) y De Alba (1971), definen a

la digestibilidad verdadera como la digestibilidad aparente menos los valores de compuestos de origen metabólico o endógeno que aparecen en las heces, ejemplos de estos serían algunas partes de jugos digestivos, la descamación de los epitelios, la producción de metano y microorganismos que se mueven en el rumen y en el intestino grueso.

Van Soest (1973; citado por Villarreal, 1978) indica que la digestibilidad verdadera de todas las raciones forrajeras y concentrados es siempre más alta que la digestibilidad aparente, debido a que parte de las heces son de origen metabólico.

## 2.2. Métodos usados en la determinación de la digestibilidad.

### 2.2.1 Métodos in vivo.

Una prueba de digestión requiere de las sustancias consumidas y de las cantidades excretadas, es muy importante que los excrementos recogidos representen cuantitativamente los residuos no digeridos de la cantidad de alimento ingerido, previamente medido (Maynard y Loosli, 1975).

Para hacer la determinación de la digestibilidad, los animales primero tienen que ser acostumbrados al alimento que se somete a investigación y a las condiciones del experimento, durante el cual el alimento consumido y la producción fecal son medidos.

French (1961), menciona que se requieren de 7 a 10 días para adaptar a los animales cuando estos son confina--

dos en jaulas metabólicas, y la colección de heces para determinar la digestibilidad requiere de otros 10 a 14 días.

Sin embargo, suele presentarse la dificultad con forrajes frescos, los cuales deben ser cortados diariamente, y se presentan cambios imposibles de prevenir en digestibilidad y composición química durante el período experimental (Raymond, 1968; French, 1961).

#### 2.2.1.1 Recolección total de heces.

Se puede medir la producción de heces fecales de los animales, tanto en confinamiento como en pastoreo, directamente por medio de la colección total. El método es relativamente simple en ovinos, pero es más difícil y más costoso, tanto en tiempo como en equipo, en vacunos. La medida puede realizarse sin error, cuando los animales están acostumbrados al uso de los arneses de colección, y si asumimos que no existe ninguna pérdida de heces.

Córdova et al. (1978), menciona que la parte del método concerniente a la colección total de heces es supuestamente la más problemática, aunque mediciones de producción fecal total sobre condiciones de pastoreo han sido llevadas a cabo extensivamente, particularmente en el oeste de los Estados Unidos (Lake et al. 1974). A pesar de que este método, requiere de bastante tiempo y cuidados en la colección total de heces, el método es generalmente considerado costoso, ya que consume bastante tiempo y resulta impracticable en algunas situaciones (Corbetr, 1960; citado por Córdova et al. --

1978). Kartchner (1975; citado por Córdova et al. 1978) estimó alrededor de 70 horas hombre de trabajo de campo que se necesitan para obtener la medida de producción fecal individual.

#### 2.2.1.2 Método de indicadores.

En este método, se determina la concentración de una -- sustancia indigestible tanto en alimento como en heces. Esta sustancia puede ser un constituyente natural de el alimento (marcador interno), o ser añadido a éste (marcador externo), o ambas cosas según lo mencionan Schneider y Flatt, -- 1975. Las sustancias comunmente usadas para este propósito -- han sido: Óxido férrico, Óxido crómico (también llamado sexquíóxido de cromo o verde de cromo), lignina, sílice, fibra cruda, nitrógeno fecal y cromógenos.

En todo indicador se deben de tener las siguientes características: debe ser totalmente indigestible; no debe tener acción farmacológica en el sistema digestivo, debe pasar a través del sistema a una velocidad uniforme (semejante al alimento en estudio); debe ser determinado químicamente en forma fácil; debe ser de preferencia un constituyente natural del alimento (Arnold, 1966), además no debe ser costoso ni laxante (Schneider y Flatt, 1975).

Kotb y Luckey (1972), mencionan dos principales ventajas al usar indicadores en estudios de digestibilidad: la -- primera es la posibilidad de sustituir la colección total -- cuantitativa de heces por métodos de muestreo aleatorio. Es-

pecialmente en estudios con grandes animales, esto ha sido de gran interés en términos de costo y trabajo. La segunda ventaja es la habilidad del investigador en corregir por pérdidas fecales. Esto es importante en humanos en estudios de balance metabólico.

Para Schneider y Flatt (1975), los indicadores que han sido encontrados con más éxito y han sido usados en los años más recientes son: el óxido crómico, cromógenos, lignina y nitrógeno fecal (o proteína indigestible).

Todos estos pueden ser empleados para determinar la digestibilidad de la materia seca y de ciertos nutrientes en los forrajes. Una característica de este método, es que la digestibilidad es calculada por la relación entre nutrientes y la sustancia indicadora en el alimento y en las heces. Este método ha sido llamado un método cualitativo.

Así en este método la forma de calcular la digestibilidad es la siguiente:

$$\text{Coeficiente de digestión de la materia seca} = 100 - 100 \times \frac{\% \text{ de indicador en la M.S. del alimento}}{\% \text{ de indicador en la M.S. de las heces}}$$

- a). Oxido crómico. ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , P.M. 152.02; sexquióxido de cromo).

Es uno de los varios compuestos crómicos con características de indicador inerte. Otros son radioactivos como el cloruro de cromo ( $^{51}\text{Cr Cl}_2$ ), cromato de sodio ( $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ ). de estos, unicamente el óxido de cromo ha sido usado exten

samente tanto en formas radioactivas y no-radioactivas es - estudios sobre lá utilización de los alimentos (Kotb y Luckey, 1972).

El uso del óxido de cromo como un marcador fecal fue - primeramente propuesto por Edin (1918; citado por Kotb y -- Luckey, 1972), su color varía desde claro hasta verde oscuro y es practicamente insoluble en ácidos y alcalis (Merck Index, 1968; citado por Kotb y Luckey, 1972).

Se puede estimar el volumen de heces, por medio de la concentración de un indicador inerte en las heces, el cual se da en forma regular a los animales. El óxido de cromo se emplea extensivamente para este propósito. Sin embargo, Arnold (1966) menciona que existen serios inconvenientes para el uso del óxido de cromo como son el recobro bajo y la variación diurna imprevisible en la excreción.

Así, Iturbide (1967) observó algunas variaciones en la excreción de óxido de cromo, apreciando que tanto en animales estabulados como en pastoreo, existe una gran variabilidad en la excreción del indicador.

El óxido de cromo se ha venido utilizando mezclado directamente con el alimento; administrandolo en cápsulas de gelatina (Bateman y Garza, 1962) y otros como Bateman y Peralta (1962), que usaron píldora con harina de trigo como - amalgama para el óxido de cromo, además se puede homogenizar con aceite o mezclarse con pulpa hecha en forma de papel para alimentación.

Para la obtención de muestras fecales existen dos métodos que son: el muestreo directo en el recto y la recolección de heces del suelo, las muestras se toman por lo general 2 veces al día, los animales reciben generalmente el óxido de cromo durante 12 días, de los cuales 7 son preliminares y los restantes 5 de colección.

b). Lignina.

La lignina es una sustancia encontrada en la pared celular de plantas, es insoluble en una solución de 72% de ácido sulfúrico (Streeter, 1969). Esta es difícil de determinar químicamente y puede encontrarse en distintas formas químicas en las diferentes especies y estados de crecimiento de las plantas.

Según Wallace y Van Dyne (1970), indican que los marcadores internos, la lignina es mejor que los cromógenos en las plantas que se encuentran en invierno, sin embargo, los procedimientos analíticos para determinar lignina son molestos y complejos, pero una de sus características más negativas fue demostrada por Wallace y Van Dyne (1970), -- después de determinar la digestibilidad aparente de lignina en varios forrajes, por diferentes clases de animales y usando diferentes métodos analíticos, concluyeron que la lignina puede ser digerida en una gran parte, particularmente en forrajes inmaduros.

Si asumimos que la lignina, es un constituyente de las plantas que se encuentra naturalmente y es indigesti--

ble, esta puede ser usada como un indicador, sin embargo se debe de tener en cuenta siempre su limitante dependiendo del tipo y edad del forraje.

La acumulación de lignina es indudablemente el mejor factor para reducir la digestibilidad de todos los forrajes con avanzada madurez. Ya que está más altamente correlacionada con la indigestibilidad de algunas especies forrajeras que cualquier otro componente químico (Barnes y Marten, 1979).

Esto se ejemplifica en las leguminosas las cuales -- tienen mayor contenido de lignina (5% para el pasto bermuda) y mayor digestibilidad de la fibra. Sin embargo, la -- digestibilidad total es mayor en las leguminosas ya que -- tienen un menor porcentaje de pared celular en comparación de las gramíneas (46% para la alfalfa; 74% para el -- pasto bermuda) (Gutiérrez, 1982).

Vough y Marten (1971; citado por Barnes y Marten, -- 1979) mencionan que las concentraciones de lignina en leguminosas y pastos fue unas veces incrementada cuando las plantas crecían con altas temperaturas. La conclusión de Van Soest y Marten (1977; citado por Barnes y Marten, -- 1979) fue que la relación entre lignina y celulosa depende de la temperatura y de la duración del día o bien el -- efecto de la luz, y estos factores pueden explicar el grado de asociación entre ADF y la digestibilidad de los forrajes en épocas específicas.

c). Cromógenos.

Los cromógenos se pueden extraer de las heces y del alimento con una solución acuosa del 85% de acetona. Los pigmentos deben ser extraídos en un mínimo de luz. La concentración de los pigmentos se hace generalmente a 411 milimicrones (Arnold, 1966).

Reid et al. (1952; citado por Schneider y Flatt, 1975), establecieron una determinada relación matemática entre la relación materia seca-cromógenos de las heces evacuadas y el forraje consumido.

Esta relación es expresada por la ecuación:

$$Y = 0.0925 X + 137.3 \log X - 242.12$$

de donde: Y = unidades de cromógeno por gr. de forraje.

X = unidades de cromógeno por gr. de heces.

La digestibilidad de la materia seca del forraje además puede ser calculada siguiendo mediciones de concentración de cromógenos de las heces, calculando la concentración de cromógenos de los forrajes consumidos por la ecuación anterior, y la inclusión de ese valor de la siguiente ecuación:

$$\text{Coeficiente de digestión de la materia seca} = 100 - 100 \frac{\text{unidades de cromógeno/g de forraje}}{\text{unidades de cromógeno/g de heces}}$$

El coeficiente de correlación entre los coeficientes de digestión determinado convencionalmente y los calcula--

dos para el nivel de cromógeno fecal fue =  $0.985 \pm 0.004$ , aunque estos valores dan idea de la relación que existe entre técnicas, se debe de considerar que al final lo que -- afecta la correlación serán las técnicas y cuidados que se tengan en la prueba en cada laboratorio.

Los cromógenos y la lignina son los indicadores internos más comunmente usados, estos se encuentran naturalmente en los alimentos.

d). Nitrógeno fecal.

Los métodos para estimar la digestibilidad y cantidad de forraje consumido por animales experimentales en pastoreo son limitados. Los 2 métodos comunmente usados son: indice de nitrógeno fecal, y la digestibilidad in vitro de material colectado por borregos adaptados con fístula esofágica (Birrell, 1980).

Este método fue desarrollado particularmente como una alternativa para los métodos que requieren muestras de forraje consumido para determinar digestibilidad. El mayor uso de el método ha sido sobre el mejoramiento de forrajes. Revisiones detalladas de el método de nitrógeno fecal han sido llevadas a cabo por O'Donovan et al. (1967) y Stree--ter (1969), ellos describen diferentes caminos en que esta técnica puede ser usada.

Desgraciadamente, no se ha podido establecer una re--gresión general entre la digestibilidad, la relación de -- alimento a heces fecales o el consumo y el porcentaje de --

nitrógeno o el total de nitrógeno en las heces fecales que se aplique a todos los forrajes. Aparentemente la relación varía entre especies, épocas del año, estado de desarrollo de la planta y posiblemente con la nutrición de la planta (Arnold, 1966).

Es necesario, por lo tanto, limitar el rango de forrajes a los cuales se les aplican las regresiones. Para obtener alta precisión, puede ser necesaria una regresión que se limite a una sola especie forrajera, cortada en una época del año. A estas se les conoce con el nombre de regresiones "locales". Considerando que los animales pastorean selectivamente hay un riesgo considerable en el error que se puede cometer al aplicar las regresiones obtenidas con forraje cortado, para estimaciones de consumo en pastoreo, este error, o extrapolación, es matemática y biológicamente inaceptable. El riesgo es particularmente con regresiones locales. Se puede reducir el riesgo, usando una regresión general, la cual se haya derivado con un rango muy grande de forrajes, porque en esta forma, la posibilidad de incluir la dieta que el animal consume, dentro del rango de especies o de forrajes estudiados, es bastante razonable. Sin embargo, en este caso, la precisión de la estimación es menor. El error estándar en la estimación del consumo de un individuo, a través de una regresión general, de esta naturaleza, fue del  $\pm 23\%$  (Lambourne y Reardon, 1963; citado por Arnold, 1966).

### 2.2.2 Método de la bolsa de Nylon (in situ).

El uso de la técnica de la bolsa de nylon (bolsa de fibra artificial, bolsa de dacrón, bolsa ruminal) es una poderosa herramienta para la evaluación de los alimentos dentro de el rumen (Kempton, 1980; Orskov, et al. 1980; Neathery, 1972).

En este método, el alimento en cuestión se introduce en una bolsa de nylon que se suspende dentro del rumen de un animal provisto de una fístula ruminal. Las bolsas se retiran tras un período de tiempo y se determina la pérdida de material (debido a la fermentación) en el contenido de la bolsa.

Church y Pond (1977), mencionan que quizás este método sea más útil para estudiar la digestión en el rumen de concentrados (cereales) que el procedimiento in vitro cuando interesa conocer la digestión relativa.

La técnica de la bolsa de nylon ha sido sometida a una variabilidad considerable de factores y se dificulta su estandarización (Barnes y Marten, 1979), las fuentes de variación incluyen tamaño y tipo de bolsa; tamaño de poro de la tela, tamaño de la muestra y finura de molido, número de muestras por experimento, dieta del animal huésped; método de suspensión en el rumen; localización y tiempo en el rumen; método de limpieza y lavado de las bolsas (Barnes, 1973).

Lowrey (1970; citado por Barnes, 1973) menciona que -

la variabilidad puede ser reducida por los restos de las -  
bolsas en el rumen por largos períodos de tiempo, por un -  
gran tamaño de muestra (10 gr), un gran tamaño de muestras  
por experimento (arriba de 48).

El tamaño óptimo de la bolsa ha sido investigado por  
un número de investigadores (Rodríguez, 1968; Mehrez, 1976;  
citado por Orskov, 1980). El tamaño óptimo es esencialmen-  
te un compromiso entre dos factores oponentes. Por una par-  
te, hay necesidad de tener la bolsa suficientemente grande  
en relación al tamaño de la muestra usada, para así asegu-  
rar que el fluido ruminal pueda fácilmente entrar a la bol-  
sa, y mezclarse con la muestra. Por otra parte, existe la  
necesidad de tener una bolsa suficientemente pequeña que -  
pueda ser fácilmente retirada a través de la cánula rumi-  
nal.

Algunos investigadores han dado una gran importancia  
al tamaño de poro en el material de las bolsas, ya que es-  
to regula el pasaje de partículas sólidas de las bolsas. -  
Así Rodríguez (1968) reporta que el material con 1680, - -  
2303 y 2550 hoyos/cm<sup>2</sup> arrojó valores similares que por la  
desaparición de la materia seca de las bolsas durante el -  
período de incubación de 72 horas.

La dieta del animal puede tener un efecto importante  
sobre la tasa de degradación del material que se incuba; -  
por ejemplo: animales a los que se les ofrecen dietas con  
una alta proporción de concentrado tendrán una actividad -  
celulolítica reducida en el rumen (Orskov et al. 1980). La

dieta escogida para el animal lógicamente dependerá del -- propósito del experimento.

### 2.2.3 Método in vitro.

Bastante información está disponible sobre los méto-- dos de laboratorio para la evaluación de la calidad del fo rraje. Una revisión comprensible fue publicada por Barnes (1973), donde se menciona que existen varios métodos para determinar la digestibilidad de los forrajes, sin embargo, lógicamente el método más exacto es considerando a los ani males para esta determinación (Método in vivo). Desafortu-- nadamente este último método es de larga duración, necesi-- tándose además cantidades elevadas de forrajes, y lógica-- mente mayores costos. Lo que limitaría su empleo en traba-- jos de selección y mejoramiento de forrajes, ya que el fo rraje disponible para estas pruebas muchas veces proviene de pequeñas parcelas, e incluso de una sola planta.

Experimentalmente se ha demostrado (Alexander, 1966; Tilley y Terry, 1963) una alta correlación entre la desapa rición de la materia seca y materia orgánica en los siste-- mas de fermentación in vitro y la digestibilidad in vivo - de los forrajes. Estas correlaciones elevadas han estimula do el empleo de las técnicas in vitro como sustituto de -- las pruebas con animales.

La técnica propuesta por Tilley y Terry (1963), con-- siste primeramente en un período de incubación de 48 horas con microorganismos del rumen en un medio buffer y en se--

gundo término, la digestión de la muestra con una mezcla - de ácido clorhídrico-pepsina. Las cantidades de materia se ca o materia orgánica que desaparecen después de ambas eta pas, se consideran como digeridas.

Así, Tilley y Terry (1963), en base a sus análisis in vitro encontraron la siguiente ecuación de regresión:

$$Y = 0.99 X - 1.01$$

en donde: Y = es la digestibilidad in vivo de la materia - seca.

X = es la digestibilidad in vitro de la materia seca.

Con una desviación estándar de  $\pm 2.31$

Buzy y Paladines (1968), encontraron una correlación elevada ( $r^2 = 0.92$ ) siendo de una magnitud similar a la en contrada por Tilley y Terry (1963). Proponiendo en base a sus análisis la siguiente ecuación:  $Y = 1.06 X - 4.06$

en donde: Y = es la digestibilidad in vivo.

X = es la digestibilidad in vitro.

Con una desviación estándar de 3.42

Esta correlación obtenida entre la digestibilidad in vivo e in vitro de la materia seca es alta, como se puede observar, a diferencia de la desviación estándar de la es timación en la regresión general, es un poco más elevada a la obtenida por Tilley y Terry (1963), sin embargo, es de suficiente precisión para predecir la digestibilidad de --

los forrajes en trabajos de selección, manejo y productividad de los forrajes.

El método de Tilley y Terry (1963), en su forma original es todavía ampliamente usado y es uno de los mejores - métodos para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia seca (digestibilidad aparente) de los forrajes (Scales et al. 1974; Barnes y Marten, 1979). Esta misma -- técnica es usada por muchos otros investigadores que han - probado confianza en la predicción de la digestibilidad in vivo (Oh et al. 1966).

Barnes (1973), hace mención de varios factores que in fluyen en la estimación de la digestibilidad in vitro de - la materia seca como: fuente de inóculo, animal donador, - dieta, cantidad de inóculo, anaerobiosis, pH, temperatura, tamaño de muestra, etc. Así, numerosas modificaciones para el método han sido probadas en intentos para reducir la va riabilidad de los factores que tienen influencia en la es- timación de la digestibilidad de la materia seca anterior- mente mencionados (Nelson et al. 1972; Grant et al. 1974.

Tilley y Terry (1963), estudiaron algunos factores -- que pueden tener influencia sobre la constancia del método in vitro. Sus resultados indican que el grado de molienda de la muestra (excepción hecha del molido con molino de ci lindros) y la temperatura de secado, hasta 105° C tenían - poco efecto. El control rígido del pH y la exclusión del - aire, fueron importantes.

### 2.2.3.1 Importancia de los estándares.

Se ha encontrado buena concordancia en análisis repetidos en diferentes momentos o en diferentes laboratorios - - (cuadro 1). A veces se produce algo de variabilidad debida posiblemente a un mal inóculo del rumen; por esta razón, en cada grupo de muestras analizadas en digestibilidad in vi--tro se debe incluir muestras de digestibilidad alta y baja conocida, para corregir los resultados (Raymond, 1966).

Cuadro 1. Digestibilidad de la materia seca in vivo e in vitro de brassicas y plantas de maíz, realizadas en dos laboratorios (Harris, 1963 citado -- por Raymond, 1966).

Cultivo	Fecha corte	in vivo	in vitro	
			G.R.I. <sup>"</sup>	N.I.A.B. <sup>'</sup>
Rape	2.11.61	83.9	78.5	79.4
Rábano forrajero	2.11.61	72.0	72.5	72.7
Col forrajera	5.12.61	84.8	85.0	84.6
Col rizada, mil cabezas (a)	10.1.62	68.2	67.7	68.4
Col rizada, mil cabezas (b)	16.2.62	60.4	54.0	54.3
Col rizada, mil cabezas (c)	16.2.62	80.1	83.0	81.4
Col rizada, híbrido P.B.I. <sup>'''</sup> (a)	16.2.62	78.3	79.0	78.8
Maíz, variedad temprana	10.10.61	69.8	72.5	70.9
Maíz, variedad media	10.10.61	68.5	72.4	72.3
Maíz, variedad tardía	11.10.61	68.4	76.9	75.3

<sup>'</sup> National Institute of Agricultural Botany.(N.I.A.B.)

<sup>"</sup> Grassland Research Institute.(G.R.I.)

<sup>'''</sup> Maris Kestrel.

(a) Planta entera.

(b) Tallo.

(c) Hojas.

En un estudio realizado por Barnes (1966), se encontró gran variación en los resultados in vitro de un forraje analizado en varios laboratorios empleando sus propias técnicas de fermentación. Estos resultados resaltan la necesidad de cada laboratorio, empleando sus propias ecuaciones de regresión, ya que la fermentación microbiana del rumen en un sistema biológico cambia con el tipo de bacterias presentes, y el crecimiento de estas es afectado por varios factores variables como pH, temperatura, concentración de sales y anaerobiosis (Buzy y Paladines, 1968).

Algunos investigadores como (Raymond, 1966; Tilley y Terry, 1963; Chalupa et al. 1966) han introducido en cada corrida de muestras de digestibilidad desconocida, dos muestras de digestibilidad in vivo e in vitro conocidas, una alta y otra baja.

Raymond (1966), menciona que los más serios problemas resultan, por la falta de estandarización de los procedimientos in vitro entre los diferentes laboratorios. Así Barnes (1966), reporta los resultados de un estudio en el que la digestibilidad in vitro de la materia seca y celulosa en 3 forrajes fue medida por 17 laboratorios. Los valores medidos para la digestibilidad de la celulosa después de 24 horas varió desde 40.0 hasta 63.9%, esto refleja el uso de diferentes técnicas en términos de tamaño de muestra, preparación del inóculo del rumen, control de pH, etc.

Por otra parte, Raymond y Terry (1966; citado por Ray

mond, 1966), tienen reportes finales entre resultados in vitro por dos laboratorios usando procedimientos idénticos, y hacen recalcar la importancia de diferentes laboratorios usando alguna muestra estándar de forraje como una comprobación sobre la reproducibilidad de el método.

Del Simposio realizado en la Estanzuela, Uruguay (Paladines, 1966), sobre la determinación del valor nutritivo de los forrajes por métodos in vitro, surgió la idea de -- preparar muestras de digestibilidad in vivo conocida que -- sirvan como ESTANDARDS para los laboratorios de América La -- tina. Así, de esta manera, se espera cierta estandariza -- ción del método.

#### 2.2.4 Otros métodos de fermentación in vitro.

Recientemente se han desarrollado nuevos métodos de -- fermentación, por ejemplo aquellos que consisten en una -- fermentación continua y cuyas características básicas son la entrada constante de sustratos; y salida, también cons -- tante, de productos. Básicamente el objetivo de estos estu -- dios son analizar los productos finales de fermentación -- (bacterias, materia seca, etc.).

Yokoyama (1982), menciona que uno de los sistemas de fermentación continua que mejores resultados ha tenido es el llamado "Chemostat" tanto utilizandolo en fase sencill -- a como en fase doble.

La fase sencilla consiste en un recipiente hermético, acondicionado con temperatura y movimiento constante de --

tal forma que simula las condiciones del rumen. Lo anterior es útil, ya sea para estudiar bacterias aisladas, o manejar el ecosistema en forma conjunta.

Por otro lado la fase doble son únicamente dos "Chemostat" sencillos unidos por una válvula de paso y esta técnica se utiliza para estudiar digestión post-ruminal, ya sea simulando lo que pasa en el estómago (abomaso), intestinos o ciego.

Otros sistemas de fermentación, similares al anterior son discutidos por Meyer et al. (1971), en donde hace una comparación de 4 métodos in vitro para predecir la digestibilidad in vivo de los forrajes.

#### 2.2.5 Predicción de la digestibilidad basándose en la composición química.

La predicción de la digestibilidad aparente a partir de la composición química, proporciona una aproximación razonable al valor nutritivo.

Se han realizado varios intentos para ello. Uno de los primeros fue el de Axelsson (citado por Blaxter, 1964), quien demostró que la digestibilidad aparente (D) de la materia orgánica de diferentes alimentos podría relacionarse con la cantidad de fibra bruta de la materia seca (F) por la ecuación:  $D = 87.8 - 0.83 F$ .

El análisis de Axelsson se basó en 680 pruebas de alimentación, pero la exactitud de la ecuación para predecir la digestibilidad no es muy grande, hay implicado un error

del orden de  $\pm 7.5$  unidades de digestibilidad. Para alimentos de escasa digestibilidad aparente el error de estimación es así aproximadamente  $\pm 20\%$  de la cantidad determinada.

También se han realizado intentos para relacionar la digestibilidad aparente con la cantidad de lignina. Para un restringido número de alimentos (pajas y cereales), los errores se han reducido a menos de  $\pm 5$  unidades de digestibilidad (Walker y Hepburn, 1955; citado por Blaxter, 1964). Sin embargo, estos valores todavía representan errores del  $\pm 10\%$  para materiales de poco valor nutritivo; por lo tanto, no se aumenta la precisión por el uso de la lignina como criterio de valoración, comparado con la fibra bruta, cuando se emplea, un rango muy amplio de materiales.

Durante la realización de muchos ensayos in vitro sobre la digestibilidad del forraje, se llevan a cabo los correspondientes análisis químicos del forraje, con el objeto de establecer correlaciones matemáticas entre digestibilidad y composición química (Raymond, 1968).

Han existido intentos de predecir la digestibilidad con base a fracciones químicas (Johnson y Dehority, 1968; Van Soest, 1965). Algunos investigadores han determinado la correlación existente entre digestibilidad y composición química, basándose en los datos, sucesivamente publicados Schneider (1947; citado por Raymond, 1968), pero la diversa naturaleza de estos datos, procedentes de países, estaciones y experimentos diferentes, reduce exactitud a -

la valoración.

Así, Pezo et al. (1978) trabajando con Lolium y Tri--folium repens encontró un valor alto de predicción ( $r^2 = 0.81$ ) entre constituyentes de pared celular y la digestibilidad aparente de la materia seca. El que halla obtenido un valor alto de correlación ( $r^2$ ) confirma que la fracción constituyente de pared celular se considera como un parámetro de importancia en la evaluación de la calidad nutritiva de los forrajes a nivel laboratorio. Sin embargo, en el mismo trabajo, Pezo et al. (1978), encontró una correlación bastante baja  $r^2 = -.49$  para Lolium y  $r^2 = -.41$  para Trifolium repens entre lignina y digestibilidad de la materia seca, estos valores de correlación observados son muy bajos, lo que haría poco confiable cualquier predicción de la digestibilidad basada en la lignina ácido detergente.

En un número de estudios de precisión de la digestibilidad in vivo ha sido comparada con métodos químicos. Así, Armstrong et al. (1964; citado por Raymond, 1966) encontró que el contenido de energía metabolizable y energía neta de una serie de pastos secos están más cercanamente correlacionados con la digestibilidad in vitro de la materia orgánica que con el contenido de celulosa o lignina. Sin embargo, Ademosum et al. (1968), reporta el método in vitro para correlacionar más exactamente con la digestibilidad in vivo que los métodos químicos probados.

La relación existente entre ciertos componentes químicos y la digestibilidad por animales ha sido demostrada --

ser dependiente sobre las especies forrajeras (Oh, et al. 1966). Por ejemplo, Phillips y Loughlin (citado por Oh, et al. 1966), encontraron correlaciones de 0.78 y 0.96 entre proteína cruda y energía digestible para henos de timothy y alfalfa, respectivamente. La correlación ( $r^2 = 0.24$ ) no fue significativa cuando ambas especies fueron combinadas.

### 3. MATERIALES Y METODOS

El presente estudio fue realizado en la Facultad de -  
Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Se rea-  
lizaron 2 experimentos, uno para la determinación de la di-  
gestibilidad in vivo y el otro para la determinación de la  
digestibilidad in vitro de la materia seca (DMS) y de la -  
materia orgánica (DMO).

El inóculo para el experimento de la digestibilidad -  
in vitro fue obtenido de un novillo provisto de una fistu-  
la ruminal al cual se le adaptó, para posteriormente reali-  
zar la prueba. El material con el que se trabajó en el ex-  
perimento fue maíz en 4 etapas diferentes de desarrollo ob-  
tenido del campo experimental "Marín" de la Facultad de --  
Agronomía de la U.A.N.L. Se contó con 0.1/2 hectáreas de -  
maíz, la cual se dividió en 4 partes, así a cada parte a -  
cierto tiempo se cortaba el material y se establecía cada  
tratamiento.

El alimento experimental antes de ofrecerse a los ani-  
males, se les henificó y posteriormente se les picó.

Los tratamientos probados fueron los siguientes:

- T<sub>1</sub> = Forraje a los 40 días aproximadamente (tierno).
- T<sub>2</sub> = Forraje " " 70 " " (jiloteando)
- T<sub>3</sub> = Forraje a los 100 días " (con grano).
- T<sub>4</sub> = Forraje " " 120 " " (rastrojo)

Hay que hacer mención que en todos los tratamientos a excepción del T<sub>3</sub> se les proporcionaba solo el puro forraje, henificado y picado, mientras que en el T<sub>3</sub> se les dió forraje con algo de grano.

Experimento 1. Determinación de la digestibilidad in vivo.

Se siguió el procedimiento descrito por Harris (1970) el cual tiene una duración de 21 días. El principio de este método se basa en que el forraje que se va a estudiar se les suministra a los animales por un tiempo suficientemente prolongado (14 días) con el fin de acostumbrarlos a él. Cuando llega el momento en que el consumo de forraje es casi igual todos los días, se empieza a anotar el consumo. Durante los últimos 7 días de la prueba, las heces se recogen para determinar los coeficientes de digestibilidad.

En la evaluación de la digestibilidad in vivo se utilizaron 6 chivos (repeticiones) con un peso promedio aproximado de 35 kg. Cronológicamente las actividades realizadas fueron las siguientes:

Día 1<sup>a</sup>. Se pesaron los animales, se colocaron en jaulas metabólicas equipadas con su comedero y bebedero también se les ajustaron las bolsas recolectoras o arneses y se les empezó a ofrecer la dieta experimental.

Día 2-14. Se ajustó la alimentación, se retiraron diariamente los rechazos y estos ya no se les volvía a

ofrecer, aquí terminó la etapa de adaptación y - comenzaba por lo tanto el período de toma de datos.

Día 15. Antes de ofrecer la dieta experimental se limpia ron muy bien las bolsas recolectoras, las jaulas metabólicas y también el área donde se encontraba el experimento, todo esto con el fin de cuantificar lo más exacto posible. Una vez realizado lo anterior se les ofrecía la dieta experimental distribuída en 4 tomas con el fin de evitar que los animales tiraran el alimento, y al final del día se anotaba el alimento ofrecido.

Día 16-21. Se descargaban las bolsas recolectoras en bolsas de plástico, también se retiraban los rechazos - en bolsas de plástico. Una vez retiradas las heces y los rechazos se les volvía a ofrecer otra vez la dieta como el día anterior y se hacía lo mismo. A las muestras recolectadas de heces, rechazos y ofrecido se les identificaba con el número del animal, fecha y tratamiento, para luego pasarlas y hacer las determinaciones de M.S. y - M.O. en el Laboratorio de Bromatología, y posteriormente hacer los cálculos de digestibilidad - aparente.

$$\text{Digestibilidad aparente} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A

de donde:

A = Cantidad promedio de M.S. consumida diariamente.  
mente.

B = Cantidad promedio de M.O. evacuada en las heces diariamente.

Todo lo anterior se le hizo a cada tratamiento y los resultados fueron evaluados estadísticamente donde el diseño experimental utilizado fue completamente al azar y los promedios de tratamientos fueron comparados entre sí mediante la prueba de Scheffé (Steel y Torrie, 1960).

Experimento 2. Determinación de la digestibilidad in vitro.

Se hizo según la técnica de Tilley y Terry (1963, modificada por Barnes, 1969). Esta técnica consiste de 2 etapas, involucra primeramente un período de incubación de 48 horas con microorganismos del rumen en un medio buffer y en segundo término, la digestión con una mezcla de ácido clorhídrico-pepsina. Las cantidades de materia seca (M.S.) o materia orgánica (M.O.) que desaparecen después de ambas etapas se consideran como "digeridas".

A los tratamientos se les determinó su digestibilidad in vitro por triplicado. El diseño experimental utilizado fue uno completamente al azar. El análisis estadístico y la comparación de medias se realizó igual que en el experimento # 1.

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSION

##### Experimento 1. Determinación de la digestibilidad in vivo.

Los promedios de digestibilidad de la materia seca -- (DMS) y de la materia orgánica (DMO) de los 4 tratamientos, se presentan en el cuadro 2. Se encontraron efectos significativos ( $P < 0.01$ ) para las diferentes etapas de desarrollo del forraje.

También se puede ver (cuadro 2), que son lógicos los resultados encontrados, ya que a mayor edad de la planta - se incrementa el % de pared celular, lo que se reflejó en la digestibilidad al disminuir ésta. (Van Soest, 1969).

Cuadro 2. Digestibilidad in vivo de la materia seca y de la materia orgánica en forraje de maíz cortado a diferentes etapas.

Tratamiento	Digestibilidad de la M.S.	$\pm$ S	Digestibilidad de la M.O.	$\pm$ S
40 días aprox.	71.88 <sup>a</sup>	1.05	74.14 <sup>a</sup>	1.31
70 " "	55.65 <sup>c</sup>	0.40	49.85 <sup>c</sup>	3.90
100 " "	66.11 <sup>b</sup>	1.29	69.57 <sup>ab</sup>	2.18
120 " "	53.03 <sup>c</sup>	2.35	56.46 <sup>b</sup>	3.45

a,b,c = Medias con distinta letra en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

De los resultados obtenidos, como se puede observar - en el cuadro # 2, el tratamiento III resultó con mayor digestibilidad que el II, esto resulta así ya que el tratamiento II consistió sólo de puro forraje, en cambio, el tratamiento III llevaba aparte de forraje algo de grano.

Respecto al uso de cabras en este tipo de experimentos se puede decir que se comportan bastante bien, en cuanto a adaptación y manejo de estas por una sola persona, sólo se tendría un poco de cuidado al interpretar los resultados obtenidos en estas, ya que es difícil extrapolar resultados y aplicarlos a otras especies. Por lo tanto, la adaptación de las cabras a las condiciones del experimento se puede decir que se comportan bastante bien y además - - ajustándose rápidamente al uso del arnés, jaula metabólica y dieta experimental.

El coeficiente de variación que se obtuvo en el experimento fue de 2.96 para la determinación de la digestibilidad in vivo de la materia seca (DMS) y de 5.45 para la de materia orgánica (DMO).

Aunque es preciso recordar, que la medida de la digestibilidad in vivo tiene también un error asociado con las diferencias individuales de los animales en su capacidad - para digerir los alimentos. El tamaño de los errores de digestibilidad in vivo es discutido por Donefer (1966) al -- realizar el análisis de un estudio cooperativo entre 15 laboratorios para determinar la digestibilidad in vivo de un mismo forraje, heno de alfalfa. Los resultados de digesti-

bilidad de la materia seca demuestran un error estándar de 2.5 unidades de digestibilidad entre laboratorios y -- 0.6 unidades dentro de laboratorios. Los valores aumentaron a 3.0 y 1.0 unidades, respectivamente cuando la medida se realizó con bovinos.

Experimento 2. Estimación de la digestibilidad in vitro.

Los promedios de digestibilidad in vitro de la materia seca y de la materia orgánica son presentados en el cuadro 3 y se encontraron efectos significativos ( $P < 0.01$ ) para las diferentes etapas de crecimiento.

Cuadro 3. Digestibilidad in vitro de la materia seca y de la materia orgánica en forraje de maíz cortado a diferentes etapas.

Tratamiento	Digestibilidad de la M.S.	$\pm$ S	Digestibilidad de la M.O.	$\pm$ S
I 40 días aprox.	61.85 <sup>ab</sup>	2.87	61.50 <sup>b</sup>	2.65
II 70 " "	50.25 <sup>c</sup>	0.41	52.54 <sup>c</sup>	0.44
III 100 " "	64.41 <sup>a</sup>	1.56	66.83 <sup>a</sup>	1.62
IV 120 " "	52.82 <sup>c</sup>	0.56	53.15 <sup>c</sup>	0.59

a,b,c = Promedios con distintas letras en la misma columna son estadísticamente diferentes -- ( $P < 0.05$ ).

También cabe hacer mención de que el inóculo que se utilizó fue de bovino, entonces, posiblemente se hubiera obtenido una precisión más alta y tal vez una correlación más estrecha si el inóculo hubiera sido el de cabra.

Si consideramos que el objetivo fundamental del presente trabajo consistió en obtener estándares para ajustar la digestibilidad in vitro a in vivo consideramos conveniente establecer un ejemplo de como se pueden utilizar estos estándares en próximas corridas de digestibilidad in vitro.

Consideremos el caso donde se ensayan 4 tratamientos, no importa el número de estos, pero supongamos que fueron 4 tratamientos para determinarles su digestibilidad in vitro, si se corrigen estos resultados con los datos del presente experimento, la metodología a seguir será la siguiente:

- 1ª Obtener los valores de digestibilidad in vitro de los estándares en cada una de las corridas efectuadas y en este caso suponer que fueron las siguientes:

	Digestibilidad <u>in vitro</u> de la M.S.	Digestibilidad <u>in vivo</u> de la M.S.
Std. 1	64.28	71.88
Std. 1	61.51	71.88
Std. 1	60.63	71.88
Std. 1	60.9	71.88
Std. 2	49.95	55.65

	Digestibilidad <u>in vitro</u> de la M.S.	Digestibilidad <u>in vivo</u> de la M.S.
Std. 2	50.29	55.65
Std. 2	49.86	55.65
Std. 2	50.92	55.65
Std. 3	64.42	66.11
Std. 3	66.96	66.11
Std. 3	63.10	66.11
Std. 3	63.17	66.11
Std. 4	53.24	53.03
Std. 4	53.31	53.03
Std. 4	51.89	53.03
Std. 4	52.85	53.03

Una vez obtenidos estos valores, se utilizan los datos de digestibilidad in vivo del presente experimento como se muestra anteriormente. Con estos datos, se procede a obtener la ecuación de regresión lineal simple, en donde la digestibilidad in vivo es tomada como la variable dependiente (Y) y la digestibilidad in vitro como la variable independiente (X).

Esta ecuación se obtiene siguiendo el modelo de regresión lineal simple, (Steel y Torri, 1960), que es:  $Y_i = B_0 + B_1 X_i$ .

en donde:  $Y_i$  = es la variable dependiente.

$B_0$  = es el intercepto al origen.

$B_1$  = es la pendiente de la recta.

$X_i$  = es la variable independiente.

$$B_1 = \frac{\sum_{i=1}^n X_i Y_i - \frac{\sum_{i=1}^n X_i \sum_{i=1}^n Y_i}{n}}{\sum_{i=1}^n X_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n X_i)^2}{n}}$$

$$B_0 = \bar{Y} - B_1 \bar{X}$$

Así, siguiendo los anteriores pasos, se obtiene la -- ecuación de regresión lineal simple que fue para el caso de este ejemplo:  $Y_i = -3.0854 + 1.1313 X_i$ .

Una vez obtenida esta ecuación, se procede a efectuar los ajustes de los datos de digestibilidad in vitro de la materia seca de los tratamientos de interés (los cuales se corrieron simultáneamente con los estándares) y así, si su ponemos que dichos datos fueron los siguientes:

	% Digestibilidad <u>in vitro</u> de la M.S. (sin ajustar)	% Digestibilidad <u>in vitro</u> de la M.S. (ajustada)*
T <sub>1</sub> R <sub>1</sub> .....	51.00 .....	54.61
T <sub>1</sub> R <sub>2</sub> .....	54.00 .....	58.00
T <sub>1</sub> R <sub>3</sub> .....	53.00 .....	56.87
T <sub>2</sub> R <sub>1</sub> .....	66.00 .....	71.58
T <sub>2</sub> R <sub>2</sub> .....	63.00 .....	68.18
T <sub>2</sub> R <sub>3</sub> .....	64.00 .....	69.31
T <sub>3</sub> R <sub>1</sub> .....	71.00 .....	72.23
T <sub>3</sub> R <sub>2</sub> .....	72.00 .....	78.36
T <sub>3</sub> R <sub>3</sub> .....	73.00 .....	79.49
T <sub>4</sub> R <sub>1</sub> .....	68.00 .....	73.84
T <sub>4</sub> R <sub>2</sub> .....	66.00 .....	71.58
T <sub>4</sub> R <sub>3</sub> .....	66.00 .....	71.58

\* Estos valores de digestibilidad in vitro de la digestibilidad de la M.S. ajustada se obtienen al sustituir el valor de digestibilidad in vitro obtenido en la corrida en la ecuación de regresión calculada previamente.

Por ejemplo:

Ecuación obtenida:  $Y_i = -3.0854 + 1.1313 X_i$ .

Para el T<sub>1</sub>R<sub>1</sub>:  $Y_i = -3.0854 + 1.1313 (51.00)$

$Y_i = 54.61$

Para el T<sub>1</sub>R<sub>2</sub>:  $Y_i = -3.0854 + 1.1313 (54.00)$

$Y_i = 58.00$

y así sucesivamente hasta llegar al último.

Para el  $T_4R_3$ :  $Y_i = -3.0854 + 1.1313 (66.00)$

$$Y_i = 71.58$$

Para hacer los ajustes para la digestibilidad in vi--tro de la materia orgánica (M.O.), se hace exactamente -- igual que para la materia seca (M.S.).

De esta manera se puede hacer con más validez diferen--tes comparaciones entre corridas y laboratorios, además -- que los datos se aproximan aún más a los resultados que en un momento dado se tendrían in vivo.

#### 4.1 Correlaciones entre digestibilidad in vivo e in vitro.

Relacionando los dos experimentos, se realizaron ecuaciones de regresión lineal simple, las cuales son mostradas en el cuadro 4 y 5.

Las ecuaciones de regresión obtenidas fueron derivadas de la digestibilidad in vivo que fue tomada como la variable dependiente, y la digestibilidad in vitro como la independiente.

También se puede observar (cuadro 4) que se obtuvo una correlación elevada ( $r^2 = 0.87$ ) esta correlación tiene una magnitud similar a la encontrada por Buzy y Paladines (1968), que fue de  $r^2 = 0.92$  entre la digestibilidad in vivo en in vitro de la materia seca (DMS).

Cuadro 4. Ecuación de regresión para la digestibilidad de la materia seca (M.S.).

Ecuación	$R^2$
$Y = -3.0854 + 1.1313 X_1$	0.87

Los ensilajes deben ser estudiados profundamente antes de hacer recomendaciones satisfactorias sobre su predicción in vitro, ya que Raymond (1966; citado por Buzy y Paladines, 1968) menciona que el calor de secamiento a que son sometidas las muestras de ensilaje previo al análisis in vitro -- produce pérdidas de materia seca, en forma de materiales volátiles, altamente digeribles, por lo cual la digestibili--

dad in vitro de los ensilajes debe ser siempre menor que la digestibilidad in vivo.

Cuadro 5. Ecuación de regresión para la digestibilidad de la materia orgánica (M.O.).

Ecuación	$r^2$
$Y_i = -14.6881 + 1.3193 X_i$	0.83

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De estos experimentos se concluye que el tratamiento I fue el que tubo mayor digestibilidad, sólo hay que considerar que en esta etapa de desarrollo del forraje, se necesitarían bastante cantidad de este para cubrir las necesidades de los rumiantes y solo se incluyó para generar las muestras estándar.

Además se concluye que las ecuaciones sólo resultan válidas para los valores de digestibilidad in vivo que varían de 53 a 72, por lo que se deben de usar con precaución, aparte de que fueron calculadas en base a cabras.

Se puede recomendar el empleo de la digestibilidad in vitro de la materia seca (M.S.) como índice de la digestibilidad in vivo de los forrajes. Sin embargo, se debe de recordar que es necesario comprobar los resultados de la técnica en cada laboratorio con muestras de digestibilidad in vivo conocidas.

También se puede decir que las cabras mostraron un buen comportamiento durante el experimento en cuanto a su adaptación y manejo de estas, por lo que se puede recomendar la utilización de estos animales como modelos en posteriores experimentos de digestibilidad.

Se recomienda que se sigan obteniendo más estándares principalmente que provengan de baja calidad para así poder tener en el Laboratorio de Bromatología estándares con

digestibilidad in vivo baja, y así poder abarcar a un mayor número de forrajes.

## 6. RESUMEN

Se llevaron a cabo 2 experimentos con el propósito de obtener los estándares y el tipo de ecuaciones de regresión que se necesitan para hacer los ajustes de digestibilidad in vitro, las variables a medir fueron digestibilidad in vitro y digestibilidad in vivo.

Los tratamientos fueron:

- I. Forraje a los 40 días aproximadamente (tierno).
- II. Forraje a los 70 días aproximadamente (jiloteando).
- III. Forraje a los 100 días aproximadamente (con grano).
- IV. Forraje a los 120 días aproximadamente (rastrojo).

En el primer experimento se determinó la digestibilidad in vivo de la materia seca (M.S.) y de la materia orgánica (M.O.). Se encontró efecto significativo para las diferentes etapas de crecimiento.

Para hacer la determinación de la digestibilidad in vivo se utilizaron 6 chivos enteros a los cuales se les adaptó primeramente durante un período de 14 días para luego hacer la toma de datos durante 7 días (Harris, 1970).

En el segundo experimento, se utilizaron los mismos tratamientos que en el anterior, aquí se determinó la digestibilidad in vitro de la materia seca (M.S.) y de la materia orgánica (M.O.). Se encontraron efectos significativos ( $P < 0.01$ ) para las diferentes etapas de crecimiento.

Tomando los valores de digestibilidad in vivo como la

variable dependiente y la digestibilidad in vitro como la variable independiente se realizó un análisis de regresión lineal simple para encontrar las siguientes ecuaciones:

Para materia seca (M.S.):  $Y_i = -3.0854 + 1.1313 X_i$   
 $r^2 = 0.87$

Para materia orgánica (M.O.):  $Y_i = -14.6881 + 1.3193 X_i$   
 $r^2 = 0.83$

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Ademosum, A.A., B.R. Baumgardt y J.M. Scholl. 1968. Evaluation of a sorghum-sudangrass hybrid at varying stages of maturity on the basis of intake, digestibility and chemical composition. *J. Anim. Sci.* 27 (3):818-823.
- Alexander, R.H. 1966. Establecimiento de un sistema de digestibilidad in vitro en el laboratorio. In O.L. Paladines, ed. Métodos in vitro para determinar el valor nutritivo de los forrajes. Memorias del Simposio, Estanzuela, Uruguay, 101-145 pp.
- Arnold, G.W. 1966. Empleo de técnicas in vitro en asociación con técnicas de muestreo para medir la digestibilidad y el consumo de forrajes bajo pastoreo. In O.L. Paladines, ed. Métodos in vitro para determinar el valor nutritivo de los forrajes. Memorias del Simposio, Estanzuela, Uruguay. 61-96 pp.
- Barnes, R.F. 1969. Collaborative research with the two stage in vitro rumen fermentation technique. In: Proc. Nat. Conf. on forage quality evaluation and utilization. Lincoln, Nebraska.
- Barnes, R.F. 1973. Laboratory methods of evaluating feeding value of herbage. In G.W. Butler and R.W. Bailey, ed. Chemistry and Biochemistry of herbage. Academic Press, New York. 179-214 pp.

- Barnes, R.F. y G.C. Marten. 1979. Recent developments in predicting forage quality. *J. Anim. Sci.* 48 (6): 1554-1561.
- Bateman, J.V. y R. Garza T. 1962. Digestibilidad del pasto imperial (*Axonopus scoparius*) y camalote - - (*Paspalum fasciculatum*). *Turr.* 12 (1):25-27.
- Bateman, J.V. y M. Peralta. 1962. Digestibilidad de una mezcla de kudzu (*Pueraria phaseoloides*) y pasto honduras (*Ixophorus unisetus* (Presl) schlecht). *Turr.* 12 (4):200-203.
- Bergner, H. 1970. Elementos de nutrición animal. Editorial Acribia, Zaragoza (España). 95-108 pp.
- Birrel, H.A. 1980. Comparing estimates of herbage digestibility from faecal nitrogen and in vitro determinations. *Anim. Prod.* 31:57-62.
- Blaxter, K.L. 1964. Metabolismo energético de los rumiantes. Editorial Acribia, Zaragoza (España). 182-185 pp.
- Buzy, A. y O.L. Paladines. 1968. Precisión de los métodos de fermentación in vitro para predecir la digestibilidad y el consumo de forrajes por rumiantes. *Turr.* 18 (4): 397-404.
- Chalupa, W. y Lee, D.D. Jr. 1966. Estimation of forage nutritive value from in vitro cellulose digestion. *J. Dairy Sci.* 49 (2):188-192.

- Church, D.C. y W.G. Pond. 1977. Bases científicas para la nutrición y alimentación de los animales domésticos. Editorial Acribia, Zaragoza (España). -- 55-59 pp.
- Córdova, F.J., J.D. Wallace y R.D. Pieper. 1978. Forage intake by grazing livestock: A review. *J. Range Manage.* 31 (6): 430-438.
- Crampton, E.W. y L.E. Harris. 1974. Nutrición animal aplicada. Editorial Acribia, Zaragoza (España). -- 104-131 pp.
- De Alba, J. 1971. Alimentación del ganado en América Latina. Editorial Fournier, México. 62-63 pp.
- Donefer, E. 1966. Collaborative in vivo studies on alfalfa hay. *J. Anim. Sci.* 25 (4): 1227-1231.
- French, M.H. 1961. Observations on the digestibility of pasture herbage. *Turr.* 11 (2): 78-84.
- Grant, R.J., P.J. Van Soest y R.E. Mc Dowell. 1974. Influence of rumen fluid source and fermentation time on in vitro true dry matter digestibility. *J. Dairy Sci.* 57 (10):1201-1205.
- Gutiérrez, O.E. 1981. Efecto del tratamiento químico y la suplementación de cuatro nutrientes sobre la digestibilidad in vitro del rastrojo de maíz y la médula de caña. Tesis. M.C. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.

- Harris, L.E. 1970. Métodos para el análisis químico y la evaluación biológica de alimentos para animales. Center for Tropical Agriculture. University of Florida.
- Iturbide, C.A. 1967. El óxido crómico como indicador externo para estimar producción fecal y consumo - en las pruebas de digestibilidad. Turr. 17 (3): 304-311.
- Johnson, R.R. y B.A. Dehority. 1968. A comparison of several laboratory techniques to predecir digestibility and intake of forages. J. Anim. Sci. 27 -- (6):1738-1742.
- Kempton, T.J. 1980. El uso de bolsas de nylon para caracterizar el potencial de degrabilidad de alimentos para el rumiante. Prod. Anim. Tropical 5: - 115-126.
- Kotb, A.R. y T.D. Luckey. 1972. Markers in nutrition. Nutr. Abstr. and Rev. 42 (3):813-845.
- Lake, R.P., D.C. Clanton y J.F. Karn. 1974. Intake, digestibility and nitrogen utilization of steers consuming irrigated pasture as influenced by limited energy supplementation. J. Anim. Sci. 38 -- (6):1291-1297.
- Maynard, L.A. y J.K. Loosli. 1975. Nutrición animal. Editorial Hispano Americana. 23-38 pp.

- Mc Donald, P., R.A. Edwards y J.F.D. Greenhalgh. 1969. Nu  
trición animal. Editorial Acribia, Zaragoza (Es  
paña). 108, 136-142 pp.
- Meyer, R.M., E.E. Bartley, F. Julius y L.R. Find. 1971. -  
Comparison of four in vitro methods for predic-  
ting in vivo digestibility of forages. J. Anim.  
Sci. 32 (5): 1030-1036.
- Morrison, F.B. 1965. Alimentos y alimentación del ganado.  
Editorial UTHEA. 23-38 pp.
- Neathery, M.W. 1972. Conventional digestion trials vs. ny  
lon bag technique for determining seasonal di-  
fference in quality of midland bermudagrass fo-  
rage. J. Anim. Sci. 34 (6):1075-1085.
- Nelson, B.D., Ellzey, H.D., Montgomery, C. y Morgan, E.E.  
1972. Factors affecting the variability of an -  
in vitro rumen fermentation technique for esti-  
mating forage quality. J. Dairy Sci. 55 (3): --  
358-366.
- O'Donovan, P.B., Barnes, R.F., Plumlee, M.P., Mott, G.O.  
y Packett, L.V. 1967. Ad libitum intake and di-  
gestibility of selected reed canary grass (Pha-  
laris arundinaceae L.) clones as measured by --  
the fecal index method. J. Anim. Sci. 26 (5): -  
1144-1152.
- Oh, H.K., Baumgardt, B.R. y Scholl, J.M. 1966. Evaluation  
of forages in the laboratory. V. Comparison of

- chemical analyses, solubility tests and in vitro fermentation. J. Dairy Sci. 49 (7):850-855.
- Orskov, E.R., Hovell, F.D.D. y Mould, F. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. Producción Animal Tropical 5: 213-233.
- Paladines, O.L. 1966. Métodos in vitro para determinar el valor nutritivo de los forrajes. Memorias Simposio Estanzuela, Uruguay. La Estanzuela, Uruguay.
- Pezo, D., W.L. Johnson, J. Vigo y R. Higaona. 1978. Valor nutritivo de rye grass (Lolium sp.) y trébol blanco (Trifolium repens) C.V. "Ladino" en diferentes estados de crecimiento. Turr. 28 (1):25-32.
- Raymond, W.F. 1966. Aplicación de las técnicas de digestibilidad in vitro. In O.L. Paladines, ed. Métodos in vitro para determinar el valor nutritivo de los forrajes. Memorias del Simposio, Estanzuela, Uruguay. 1-39 pp.
- Raymond, W.F. 1968. Digestibilidad de la hierba. In J.T. Abrams, ed. Avances en nutrición animal. 99-144 pp.
- Rodríguez, H. 1968. The in vivo bag technique in digestibility studies. Rev. Cub. Cien. Agric. (English edition) 2:77-81.

- Scales, G.H., C.L. Streeter, A.H. Denham y G.M. Ward. - -  
1974. A comparison of indirect methods of pre--  
dicting in vivo digestibility of grazed forage.  
J. Anim. Sci. 38 (1):192-199.
- Schneider, B.H. y W.P. Flatt. 1975. The evaluation of - -  
feeds through digestibility experiments. The --  
University of Georgia Press. Athens. 168-178 pp.
- Steel, R.G.D. y J.H. Torrie. 1960. Principles and procedure  
s of statistics. Mc Graw-Hill Co. N.Y.
- Streeter, C.L. 1969. A review of techniques used to esti-  
mate the in vivo digestibility of grazed forage.  
J. Anim. Sci. 29 (3):757-768.
- Tilley, J.M.A. y R.A. Terry. 1963. A two stage technique  
for the in vitro digestion of forage crops. J.  
Brit. Grassland Soc. 18:104-107.
- Van Soest, P.J. 1965. Symposium on factors influencing --  
the voluntary intake of herbage by ruminants: Vol  
untary intake in relation to chemical composi-  
tion and digestibility J. Anim. Sci. 24 (3): --  
834-843.
- Villarreal de la G.A. 1978. Digestibilidad in vitro del -  
estiércol de cerdo. Tesis. F.A.U.A.N.L.
- Wallace, J.D. y G.M. Van Dyne. 1970. Precision of indi- -  
rect methods for estimating digestibility of for  
rage consumed by grazing cattle. J. Range Mana-  
ge. 23 (6):424-430.

Yokoyama, M.T. 1982. Curso de Microbiología Ruminal. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

