

LA EVALUACION EN EL LABORATORIO DEL VALOR NUTRITIVO

DE LOS FORRAJES\*

6 DIC. 1977

1. BASES GENERALES

Las evaluaciones de los forrajes ya sea se hagan desde un punto de vista ecológico, físico, químico o nutricional, tendrán importancia sólo de orden académico si se consideran de manera aislada. Estos serán de importancia económica en la medida que se integren en un sistema de producción animal, el cual puede quedar definido por sus elementos componentes: el ambiente (incluye el suelo), el forraje, el rumiante y el hombre como "regulador" o "integrador" y las múltiples interacciones.

Estos "sistemas" en el caso de los rumiantes, han sido hasta la fecha sistemas no intensivos o poco eficientes de uso de la tierra, si se comparan con los cultivos o con los sistemas en que intervienen los animales no rumiantes como elementos transformadores de la energía en productos de uso humano. En este sentido Melville (1960) ha señalado que los sistemas extensivos producen poco por unidad de área, y que a medida que se incrementa la demanda mundial de alimentos o éstos se hacen más productivos o las pasturas serán reemplazadas por cultivos que puedan ser usados por rumiantes o directamente por los humanos. En tal caso los sistemas de producción a base de forraje serán confinados en áreas no cultivables y de este modo contribuirán sólo marginalmente a la nutrición de la población mundial.

La eficiencia de estos "sistemas" según Raymond (1969) estará dada por: (a) la eficiencia de uso por las plantas de la energía luminosa incidente, (b) la proporción de la energía de la planta que es consumida por el rumiante y (c) la eficiencia con que los animales convierten la energía que consumen en productos que pueden ser usados por los humanos. Este último criterio de eficiencia de conversión del alimento, si bien es dependiente del potencial del animal, también lo es de la calidad del forraje, la cual según Mott (1970) está dada por la cantidad de forraje consumido y el valor nutritivo del mismo.

A este punto se puede definir qué criterios se involucran dentro del concepto de valor nutritivo. Mott (1970) señala que el valor nutritivo se refiere a la composición del alimento, su digestibilidad y la naturaleza de los productos resultantes de la digestión. Según Ingalls et al (1965) el 70% de la variación en la producción potencial entre forrajes puede ser debida a diferencias en el consumo voluntario y sólo un 30% a diferencias en digestibilidad y concentración de nutrientes medidos por los métodos tradicionales. Esta afirmación indudablemente resta importancia a los análisis químicos, de digestibilidad,

---

\* Preparado por: Danilo Pezo, Ingeniero Zootecnista, Estudiante Graduado del Departamento de Ganadería Tropical, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. 1974.

pero no los anula, pues si se considera que el valor nutritivo describe las características del forraje que le permiten cumplir la función de proveer una nutrición adecuada al animal (Johnson, W. L., 1972) entonces siempre será necesario el conocer la concentración de los nutrientes y la magnitud con que ellos pueden ser aprovechados por el animal.

La evaluación nutritiva en sí no es sencilla por cuanto el valor nutritivo de un alimento cambia de acuerdo al estado productivo del animal y los cambios no son constantes de un tipo de alimento a otro.

CUADRO 1. Uso de la energía neta para diferentes funciones de producción y tipos de alimento (NAS-NRC, 1971).

Uso de la Energía Neta	Heno de Alfalfa 50% Floración	Maíz Ensilado (buena mazorca)	Paja de Trigo
Mantenimiento	1.20	1.56	0.99
Ganancia	0.52	0.99	0.10
Lactancia	1.21	1.70	0.88

Por otro lado, para el animal existe una lista larga de nutrientes esenciales, y al cumplir cada uno su(s) propia(s) función(es), es entonces imposible reducir la evaluación nutritiva a una sólo unidad de medida.

Ninguna evaluación nutritiva puede ser completa, por lo que de las medidas del valor nutritivo disponibles se tiene que decidir cuáles son las más importantes para cada persona y circunstancia. En este sentido R. R. Johnson (1970) señala que ésto dependerá de si la persona que va a utilizar la información es productor, especialista en alimentación o investigador y entre estos últimos, si se trata de un nutricionista, un genetista de forrajes o un especialista en manejo de pastos.

Es criterio del autor que los factores que deben considerarse para tomar una decisión en cuanto a las evaluaciones a hacer son:

1. El sistema de producción en que se utilizará el forraje y los factores nutricionales que podrían ser limitantes para una producción eficiente.
2. Un conocimiento previo del tipo de forraje de que se trata.
3. Las inferencias que se pueden hacer con los resultados.
4. El costo del análisis comparado con el posible beneficio de la nueva información obtenida.

Este último punto generalmente no recibe la importancia que merece, pues es tan importante saber cuando no hacer ciertos análisis, por ser difícil justificar su costo, como lo es el saber cuándo los análisis son nutricionalmente indispensables.

## 2. MEDICION EN EL LABORATORIO DEL VALOR NUTRITIVO DE LOS FORRAJES

La evaluación de los forrajes en el laboratorio está esencialmente dirigida a obtener información que permita predecir la magnitud de la degradación biológica bajo condiciones específicas de animales, organismos y tiempo. Van Soest (1970) señala que, al ser la proteína, azúcares, almidones y lípidos fácilmente aprovechables, entonces los análisis químicos deben estar dirigidos a medir los factores limitantes de la aprovechabilidad del sustrato, de aquí la importancia que debe darse a los constituyentes de la pared celular en los forrajes.

La digestibilidad in vitro refleja los factores, conocidos y desconocidos que limitan el aprovechamiento del forraje por el organismo de digestión y por esta razón, según Deinum y Van Soest (1969), hay ventaja de las técnicas de digestión in vitro sobre los análisis químicos en la predicción de la digestibilidad in vivo.

Sin embargo, la técnica in vitro, al no identificar el factor o factores limitantes de esa digestibilidad, entonces debe ser complementada por los análisis químicos.

### 2.1. Análisis químicos

Es conveniente señalar que los análisis químicos desarrollados para forrajes no están necesariamente dirigidos a aislar

CUADRO 2. Uniformidad de entidades químicas y nutricionales (Van Soest, 1970).

Fracción	Uniformidad		Digestibilidad Verdadera %	Principal Factor Limitante
	Química	Nutricional		
Ac. grasos	Agrupado	+	< 100	Jabones fecales
Ac. orgánicos	"	+	100	Ninguno
Azúcares	"	+	100	"
Almidón	"	+	98	Velocidad pesaje
Pectinas	"	+		
Proteína cruda	"	+	Ca. 90	Pesaje, prod. Mail.
Lignina	?	+	< 0	N lignificado
Polímero Maillard	+	+	< 0	Degradación Anaer.
Celulosa	+	0	Variable	Lignificación
Hemicelulosa	0	0	"	"

"entidades químicas discretas", como podría ser la celulosa bioquímicamente uniforme, sino a separar fracciones químicas que son capaces de predecir digestibilidad o valor nutritivo. Muchas de estas fracciones no son químicamente uniformes aunque la mayor parte de ellas son "nutricionalmente uniformes". Cuando se habla de fracciones "nutricionalmente uniformes" se hace referencia al concepto de Lucas et al (1961) quienes sostienen que para que una fracción sea considerada como "nutricionalmente uniforme" debe tener la misma digestibilidad verdadera en todos los forrajes y alimentos.

2.1.1. Análisis proximal de Weende

El describir el sistema de Weende, resulta ocioso, por cuanto es un método tradicional bastante conocido. Sin embargo, interesa mostrar gráficamente el fraccionamiento del forraje por este método.

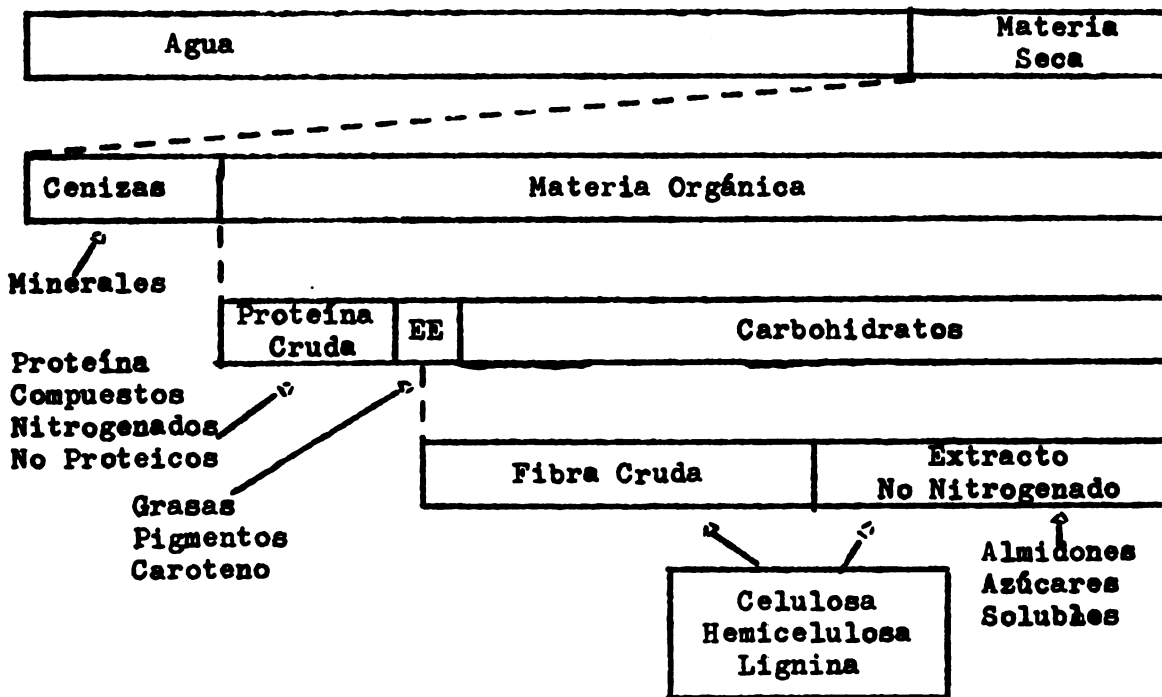


FIGURA 1. Fraccionamiento químico de un forraje por el sistema Weende.

En sus inicios, hace más de 150 años, se pensó que la fibra cruda representaba la porción indigestible, pero al descubrirse que la celulosa era parcialmente digestible se anuló el concepto inicial con relación a la fibra cruda. Sin embargo, este fraccionamiento

se ha mantenido por cuenta la fibra cruda mostraba relación con la calidad del forraje.

Van Soest (1966) con datos tomados de Crampton y Maynard (1938), muestra que la fibra cruda es en algunos casos más digestible que el Extracto No Nitrogenado (ENN), el cual se supone representa los carbohidratos altamente digestibles (Cuadro 3). La baja digestibilidad del ENN puede ser explicada por el hecho que parte de la lignina indigerible es considerada como integrante del ENN al ser solubilizada por el álcali (Van Soest y Moore, 1964). Así mismo una alta proporción de los componentes de la hemicelulosa y algo de la celulosa se solubilizan siendo por tanto, parte integrante del ENN.

CUADRO 3. Digestibilidad relativa de fibra cruda y ENN (Van Soest, 1966).

Tipo de Alimento	Nº de Ensayos Digestibilidad	Digestibilidad $\bar{X}$		% en que Digestibilidad de ENN Fue Igual o Mayor que la Fibra Cruda
		Fibra Cruda	ENN	
Seco	110	52.4	59.5	30
Suculento	61	63.5	76.3	20
Ensilaje	25	58.2	64.6	28
Concentrado	88	53.3	78.5	10

#### 2.1.2. Sistema de análisis de consituyentes de la pared celular

Si bien por mucho tiempo se han conocido las limitantes de la fibra cruda, los numerosos intentos que se han hecho para reemplazarla, no han alcanzado el éxito deseado. Esto se debe a que se ha partido de un concepto inadecuado del significado y propósito de las determinaciones de las fracciones fibrosas de un alimento.

La fibra puede ser definida nutricionalmente como la materia orgánica insoluble, no digerible por enzimas de origen animal (Van Soest, 1966), ya que numerosos estudios sobre los constituyentes fibrosos de las plantas han mostrado que estos constituyentes sólo pueden ser usados por vía de la fermentación gastro-intestinal. Van Soest y Wine (1967) sostienen que el hecho de que las celulosas y hemicelulosas no sean secretadas por

los animales mayores es de importancia económica, pues los alimentos altos en fibra son muy pobremente utilizados por los no rumiantes debido a su poca capacidad de fermentación gastrointestinal. Aún en los rumiantes, que son considerados como los más eficientes utilizadores de la fibra, el mayor contenido de ella está asociado con bajo consumo y una baja eficiencia productiva. El microorganismo utiliza una porción del alimento para su propio mantenimiento y sólo algo de los productos de fermentación y los mismos microorganismos pueden ser utilizados por el hospedero (rumiante).

CUADRO 4. Clasificación de las fracciones del forraje de acuerdo a sus características nutricionales (Van Soest, 1967).

Fracción	Digestibilidad	
	Rumiantes	Monogástricos
<u>Contenido celular</u>		
Azúcares, CHO solubles	Completa	Completa
Almidón		
Pectina	Completa	Alta
Nitrógeno no proteico	Alta	Alta
Proteína	Alta	Alta
Lípidos	Alta	Alta
Otros solubles	Alta	Alta
<u>Paredes celulares</u>		
Proteína insoluble	Completa	
Hemicelulosa	Parcial	Baja
Celulosa	Parcial	Baja
Productos Maillard	Indigestible	Indigestible
Lignina	Indigestible	Indigestible

En el Cuadro 4 puede notarse que los componentes del contenido celular son alta o completamente digeribles, tanto en rumiantes como en monogástricos. Por otra parte los componentes fibrosos, constituyentes de las paredes celulares, son de aprovechabilidad limitada a nula en rumiantes y siempre de menor magnitud en el caso de los monogástricos.

Las diferencias en el grado de aprovechamiento de las fracciones en rumiantes y no-rumiantes son debidas a que los componentes de la primera fracción son digeridos por enzimas secretadas en el tracto digestivo de todos los animales, mientras que las paredes celulares tienen componentes que sólo pueden ser digeridos por los microorganismos, lo cual da considerable ventaja al rumiante.

Tomando en cuenta los criterios enunciados en los últimos diez años Van Soest (1963a,b; 1964; 1965; 1967,a,b; 1969) y Van Soest y Moore (1964), Van Soest y Jones (1968), Van Soest y Wine (1968), Van Soest y Lovelace (1969) han desarrollado una serie de métodos de análisis químico que en conjunto constituyen un sistema de fraccionamiento de forrajes con el que se superan algunas, pero no todas las desventajas del sistema de Weende. Los detalles del método se presentan en una publicación de Gbering y Van Soest (1970), traducida al español por Pezo (1972).

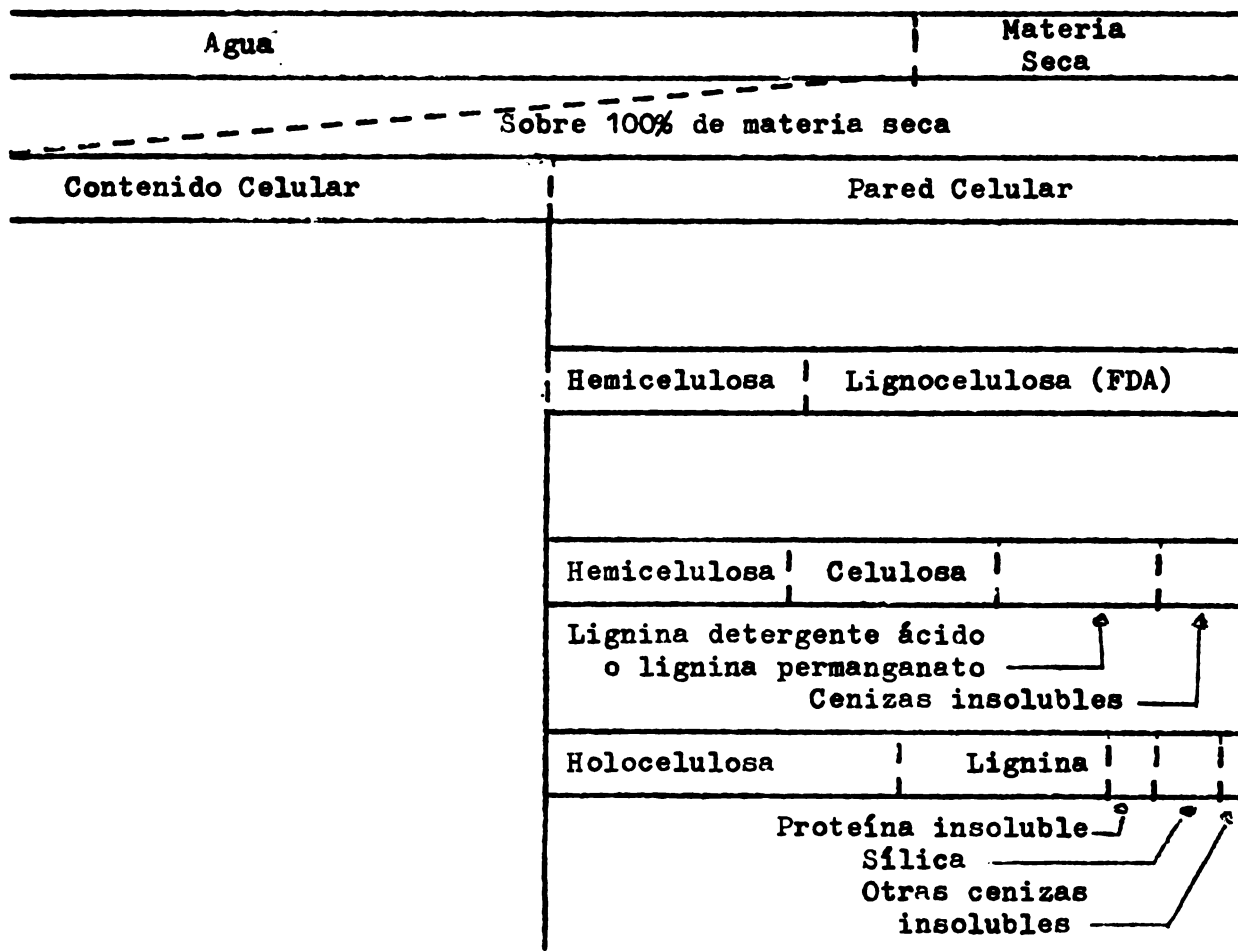


FIGURA 2. Fraccionamiento químico de un forraje por el Sistema Van Soest.

En la Figura 2 el primer fraccionamiento en el sistema de Van Soest es entre los componentes de la pared celular (CPC), y el contenido celular, éstos también reciben la denominación de fibra detergente neutro (FDN) y solubles en detergente neutro (SDN), respectivamente, al hacerse el fraccionamiento usando un detergente de pH neutro. La fracción CPC representa el contenido real de "fibra total" de la planta y alcanza valores más altos que la fibra cruda, ya que incluye el total de la lignina, celulosa y hemicelulosa.

El "contenido celular", comprende todas las sustancias solubles en el detergente neutro e incluye la proteína soluble, los almidones y azúcares, grasa, minerales solubles y otros. Como se observa en el Cuadro 4 todas estas sustancias son prácticamente 100% aprovechables por el animal.

La segunda fase de este sistema es la extracción de la materia seca con detergente ácido, siendo la lignocelulosa o fibra detergente ácido el residuo resultante. La hemicelulosa es soluble al pH en que se realiza esta extracción, por lo que se estima como la diferencia entre la FDN y el FDA. En posteriores análisis hechos sobre el residuo de la extracción con detergente ácido se determinan los contenidos de celulosa, lignina, sílica y cenizas insolubles. Los detalles del método se muestran esquemáticamente en la Figura 3.

CUADRO 5. Relación de los diferentes sistemas para fraccionar la materia orgánica del forraje (Van Soest y Moore, 1964).

Sistema Van Soest	Componentes del Forraje		Sistema
	Nitrogenados	No Nitrogenados	Weende
		Lípidos	Extracto Etéreo
Contenido Celular	N no-proteico	Solubles en agua	
	Prot. Soluble	Pectina	Extracto libre de Nitrógeno
		Almidón	
	EDA Prot. Insoluble	Hemicelulosa	
Paredes Celulares	Ligno- celulosa (FDA)	Productos Maillard	Lignina soluble en álcalis
			Lignina insoluble
		Celulosa	



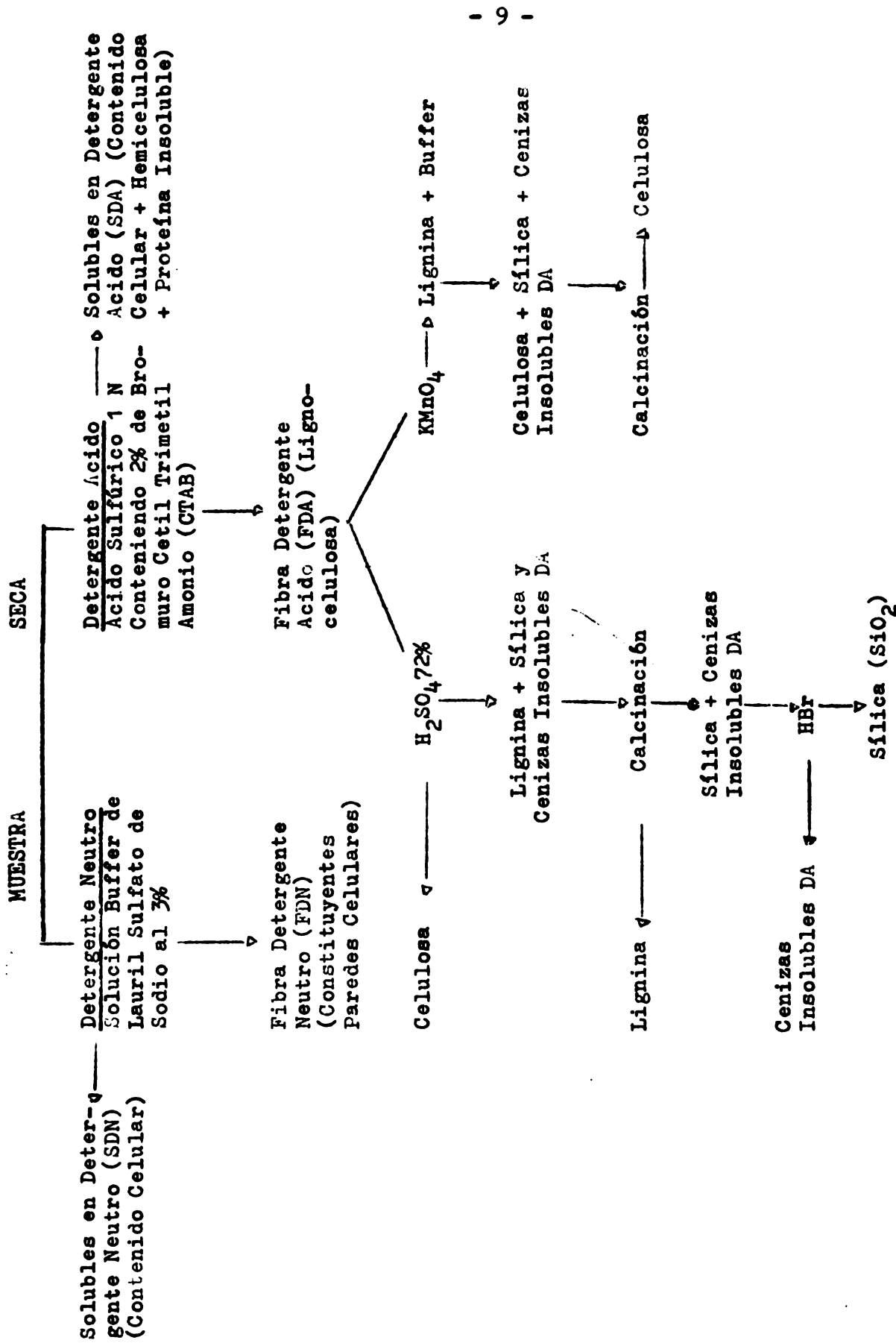


FIGURA 3. Fraccionamiento de la materia seca de un alimento siguiendo las técnicas de Van Soest

Se ha definido que la finalidad de los métodos de evaluación nutritiva en el laboratorio es obtener información que permita predecir la magnitud de la degradación biológica que puede sufrir un alimento en el organismo animal. Sin embargo, las evidencias reportadas en la literatura (Oh, et al, 1966, Gaillard, 1966; Van Soest, 1967, Gaillard, Nijkamp, 1968; Van Soest y Jones, 1969; Smith, et al, 1971) y experiencias obtenidas en el Perú (Johnson, et al, 1973a; Johnson et al 1973b; Johnson et al, 1973a; Johnson y Pezo 1973d) llevan a aceptar que ninguna entidad química o nutricional puede cuantificar el complejo proceso de la digestión del rumiante. Es decir, debe pensarse en un sistema de múltiples componentes que permita estimar a partir de análisis químicos simples la magnitud de degradación biológica del forraje. Estos "sistemas múltiples" no son del todo satisfactorios, pues los trabajos de Johnson y Pezo (1973d) muestran que cuando se relacionaron las diferentes fracciones químicas con la digestibilidad verdadera in vitro de la materia seca en 370 muestras de 41 forrajes se consiguió la ecuación:

$$\text{DIVMS} = 117.2 - 0.761 \text{ celulosa} - 0.586 \text{ hemicelulosa}$$

$$- 1.926 \text{ lignina} \quad (\text{I})$$

$$R^2 = .64.$$

El mismo modelo fue el mejor para forrajes individuales, pero los valores de "b" variaron grandemente entre especies. Cuando el mismo modelo se aplicó a gramíneas, leguminosas y alimentos toscos por separado, los valores de  $R^2$  fueron de 0.55, 0.78 y 0.66, respectivamente. Podrían darse los valores en los otros modelos probados, pero realmente con ninguno de los estudiados se pudo mejorar el valor predictivo de la ecuación I. Esto puede deberse a dos causas principales, de acuerdo a lo propuesto por Raymond (1969):

- a. Las ecuaciones hasta hoy desarrolladas no incluyen todos los componentes que ejercen una influencia significativa sobre la digestibilidad.
- b. Los métodos químicos miden el contenido de los diferentes componentes en una muestra de forraje, pero no miden la distribución física y la organización de estos componentes dentro de la planta. Estos deben determinar, en alguna magnitud, cuánto de la fracción fibrosa del forraje puede ser digerida por los microorganismos del rumen. El método químico tiende a considerar el forraje como un material homogéneo; así por ejemplo, se interpreta un incremento en el contenido de lignina como un incremento

en el grado de lignificación de la planta como un todo. En este sentido, por ejemplo Van Soest y Wine (1968) consideraron que el grado de lignificación al cual está asociada la digestibilidad de las paredes celulares, está determinado por la proporción lignina : fibra detergente ácido (L/FDA). Sin embargo, los trabajos de Deinum y Van Soest (1969) muestran que estas relaciones no funcionan como se consideró en un principio con gramíneas y leguminosas de una zona también templada. Igualmente cuando se estimó la misma relación con información proporcionada por Van Soest *et al* (1971) para gramíneas tropicales de Puerto Rico y cuando se hizo con nuestra propia información en pasto Elefante (Johnson *et al*, 1973) y con diferentes especies gramíneas, leguminosas y en alimentos toscos (Johnson y Pezo, 1973d) se pudo confirmar que esta relación no tiene el valor predictivo que se le atribuyó en un principio.

Tal vez algo que puede ilustrar más claramente este punto es el hecho que cuando se analizan muestras de bagazo de caña sin tratar, tratado con hidroxido de sodio, a niveles de 2, 4 y 8% y pese a que no se varió mayormente la proporción de L/FDA, se produjeron incrementos marcados en la digestibilidad de la materia seca y las paredes celulares (Cuadro 6).

CUADRO 6. Relación L/FDA y digestibilidad de MS y CPC en bagazo de caña tratado y sin tratar (Pezo y Goyzueta, 1972).

	L/FDA	Digestibilidad	
		M.S.	C.P.C.
Sin tratar	24.0	27.9	20.4
+ 2% NaOH	23.1	48.1	40.6
+ 4% NaOH	25.0	65.2	54.4
+ 6% NaOH	21.8	86.2	77.4

## 2.2. Digestibilidad in vitro

Paralelamente al desarrollo de los métodos químicos descritos anteriormente, se han desarrollado métodos biológicos de evaluación de forrajes, siendo éstas las técnicas de rumen artificial o de digestibilidad in vitro.

Bajo la denominación de técnicas de digestibilidad in vitro, se agrupan todas aquellas técnicas en las cuales se trata de simular en el laboratorio, de la mejor manera posible, los procesos de degradación que se producen en el rumen del animal.

Estas técnicas, al medir el grado de degradación, toman en cuenta tanto la proporción en que se presentan las diferentes fracciones así como la distribución e interrelaciones físicas de los componentes químicos en las diferentes porciones de la planta. Esto hace que sean más confiables las predicciones que se pueden hacer de la digestibilidad in vivo a partir de los datos in vitro (Cuadro 7) que de los análisis químicos.

CUADRO 7. Relaciones entre digestibilidad in vivo e in vitro

	n	Y = a + bx	byx	R <sup>2</sup>	Autor
<b>Materia Seca</b>					
Todos	148	Y = 0.99x - 1.01	2.31	.94	Tilley y Terry, 1963
Leguminosas	18	Y = 0.85x + 8.37	1.42	-	Tilley y Terry, 1963
Todos	56	Y = 0.74x + 16.8	3.0	.77	Oh, <u>et al</u> , 1966
Gram. Trop.	50	Y = 0.83x + 11.5	2.1	.92	McLeod y Minson, 1968
Todos	52	Y = 1.06x + 4.06	3.42	.85	Buzy y Paladines, 1968
Todos	20	Y = 0.90x + 4.0	3.7	.86	Van Soest, Wine y Moore, 1966
Todos	20	Y = 0.96x - 10.4*	2.8	.82	Id.
<b>Materia Orgánica</b>					
Todos	43	Y = 0.97x + 5.05	2.33	-	Alexander y McGovern, 1966
Gramíneas	51	Y = 0.88x + 11.03	2.06	-	Drew, 1966

\* X = Digestibilidad verdadera in vitro por la modificación propuesta por Van Soest, Wine y Moore, 1966.

### 2.2.1. Factores y condiciones en un proceso de rumen in vitro

Todo ensayo de digestibilidad in vitro supone la presencia de tres "ingredientes" fundamentales:

- a. Substrato: Es la muestra de forraje en la cual se hace la determinación de la digestibilidad.
- b. Inóculo: Está constituido por el "licor ruminal" o solución de microorganismos celulíticos que van a actuar sobre las fracciones fibrosas del forraje. Es conseguido de un animal fistulado al rumen que es el "donante".

- c. Tampón o Buffer: Es la "saliva artificial", la cual además de ser fuente de macro-elementos necesarios para los microorganismos, también cumple una función de regulación del pH en el ambiente in vitro. La mayor parte de las técnicas actuales también usan una solución de microelementos.

Con relación a las condiciones a mantenerse durante el proceso de digestión y que es necesario reproducir en el laboratorio son:

- a. Anaerobiosis: Poco oxígeno y alta tensión de CO<sub>2</sub>. Esta condición es necesaria para el normal desarrollo de los microorganismos celulolíticos, pudiendo ser conseguida en el laboratorio mediante el gaseado de los tubos, lo cual permite la salida de los gases producidos en la fermentación y evitan el ingreso de oxígeno.
- b. Temperatura: Constante entre 38 y 39°C, la que puede ser mantenida en el laboratorio mediante el uso de un baño maría o estufa incubadora.
- c. pH: También constante, el cual debe ser ligeramente ácido (pH 6.9) y es mantenido gracias a la saliva artificial.
- d. Obscuridad: Es un factor que a lo largo de muchos trabajos se ha demostrado como no indispensable, pero se considera necesario evitar la acción directa de los rayos solares sobre los tubos en incubación. Si se desea mantener la condición de obscuridad, deberán pintarse los tubos de color negro.
- e. Movimientos: En el rumen es característica su constancia, pero ello no significa que sea necesario reproducirlos con la misma frecuencia en el laboratorio. Lo que sí, es recomendable mover los tubos 4 a 6 veces durante las 48 horas que dura la fase celulolítica o de acción microbiana, buscándose con estos movimientos que los microorganismos actúen uniformemente sobre todo el sustrato.

Lo anteriormente dicho se refiere a la primera fase de digestibilidad in vitro en la técnica de Tilley y Terry (1963) y se mantiene casi sin variación en las varias modificaciones que se han hecho sobre la misma.

Como se observó que después de esta primera fase quedaba un porcentaje relativamente importante (20-50%) de las proteínas no digeridas (Tilley et al, 1960), especialmente con forrajes de cierto contenido de proteína cruda, se vio la necesidad de pasar a una segunda fase de digestión en pepsina ácida.

En la segunda fase se requieren condiciones de alta acidez (pH cercano a 2) las que son conseguidas por acidificación con HCl, para que actúe la pepsina la cual se añade al medio luego de finalizada la primera fase. Es necesario seguir manteniendo en esta fase enzimática y por otras 48 horas, las condiciones de temperatura y movimientos. Los valores que se pueden obtener al final de este procedimiento son en términos de digestibilidad aparente, que es justamente lo que se determina en un proceso in vivo. Si se pone en práctica la modificación propuesta por Van Soest, Wine y Moore (1966), la fase enzimática es reemplazada por una digestión en una solución buffer de lauril sulfato de sodio al 3%, lo que permite digerir incluso la "materia metabólica fecal", obteniéndose entonces valores de "digestibilidad verdadera".

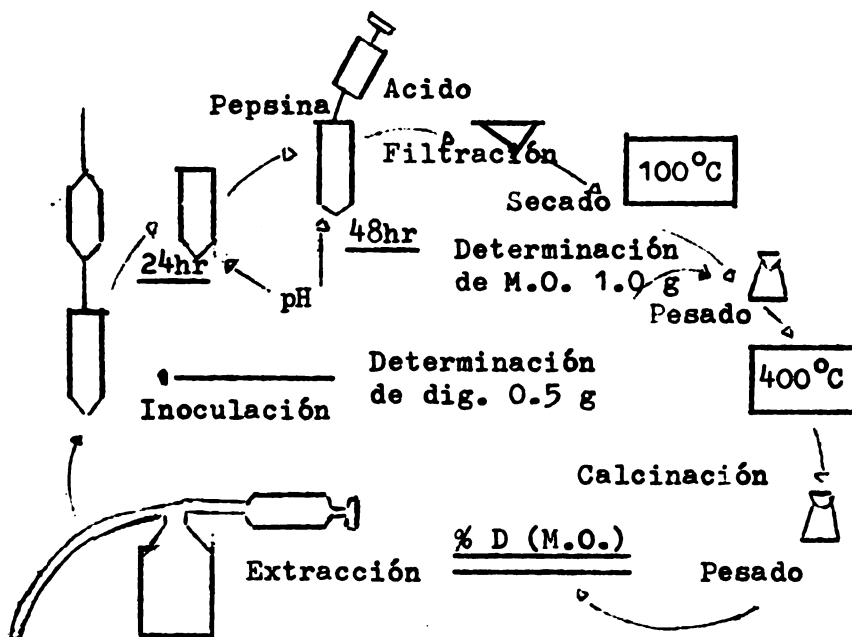


FIGURA 4. Descripción del método de digestibilidad in vitro, tomado de Alexander, R. H. (1966).

### 2.2.2. Expresión de resultados de ensayos in vitro

Además de las diferencias de expresión en relación a que si se trata de digestibilidad aparente o verdadera, lo cual dependerá como se vio anteriormente, de la técnica usada; hay hasta tres formas de expresar la digestibilidad (Tilley y Terry, 1968).

a. Digestibilidad de materia seca sobre base seca (DMS).

- b. Digestibilidad de materia orgánica sobre base de materia orgánica (DMO).
- c. Digestibilidad de materia orgánica sobre base de materia seca (Valor "D").

Las formas (a) y (b) son las más comúnmente usadas para analizar los resultados, siendo sobre esta base comparados los resultados in vitro con los in vivo. La forma (b), a diferencia de (a) y (c) no es afectada por la contaminación de las muestras de forraje con material suelo, debiendo preferirse esta forma de expresión de resultados cuando el grado de contaminación es muy variable. La forma (c) expresa una evaluación del alimento en términos de "nutrimentos digeridos por unidad de alimento seco", lo cual es una aproximación al valor de NDT. Esto se debe a que el contenido de extracto etéreo del pasto, al que se le da un valor energético 2.25 veces mayor que a las otras fracciones, es muy bajo.

Además de los ya enunciados, puede utilizarse también como forma de expresión de resultados la digestibilidad de las paredes celulares, de la celulosa, la producción de AGV y otros.

### 2.2.3. Fuentes de variación en digestibilidad in vitro

Son múltiples los factores que pueden hacer variar los resultados in vitro de la digestibilidad y variable en el grado de influencia de cada uno de ellos. A continuación se considera el ordenamiento propuesto por Van Dyne y Haug (1968), quienes señalan:

#### a. Variaciones en la población microbiana

- Dieta del animal donante. Hay quienes como Harris (1970) proponen que el animal donante debe estar consumiendo un forraje igual al que se va a probar. Hay otros como Alexander (1966), Tilley y Terry (1968) y Raymond (1969) que sostienen que lo más importante es que se trate de uniformizar al máximo la dieta del animal(es) donante(s) y que el forraje de la dieta contenga por lo menos un 10% de proteína. El autor también considera que el forraje que recibe el animal donante debe tener más un 50% de constituyentes de paredes celulares, además debe de usarse un suplemento para cubrir requerimientos de mantenimiento y para asegurar una adecuada actividad ruminal.

Así mismo otro factor que se debe considerar es el nivel de nitrógeno en la muestra o en el pasto que consume el donante. Si éste es menor de 6%, se puede afectar la magnitud de la digestibilidad in vitro (Raymond y Terry, 1966), por lo que se hace necesario en tal caso, la adición de nitrógeno al medio nutritivo.

CUADRO 8. Efecto de la dieta del animal donante y la suplementación nitrogenada sobre el % de DMS in vitro (Raymond y Terry, 1966).

Muestra	Heno	% DMS con animal donante que consumen		
		Paja	Heno + N <sup>a</sup> /	Paja + N <sup>a</sup> /
0.7% N, DMS 46%	47	26	47	46
4.1% N, DMS 75%	74	61	74	73

a/ N suplementado en el medio nutritivo (6 mg de N/muestra).

- Diferencias debidas a individuos. Al haber variaciones entre individuos en cuanto a la población de microorganismos ruminales, Tilley y Terry (1968) recomiendan el utilizar más un animal fistulado y mezclar los licores ruminales para la inoculación.
- Diferencias en el procesamiento del inóculo. La forma en que se logran mantener las condiciones antes mencionadas, desde el momento que el licor es extraído hasta que es inyectado en los tubos, es determinante en la viabilidad de los microorganismos del inóculo y por consiguiente de la repetibilidad de los resultados (Pezo, 1969).
- b. Diferencias debidas a la conservación, preparación y molido de las muestras.
- c. Diferencias atribuibles al medio.
  - Relación muestra : inóculo.
  - Buffer usado.
  - Medio nutritivo.
- d. Variaciones debidas al tiempo de fermentación, criterio de digestibilidad y errores de laboratorio.



Todos estos factores son los que explican la variabilidad observada entre laboratorios en estudios como el de Barnes (1970). En la medida que se estandaricen los métodos usados en los diferentes laboratorios, se harán los resultados más comparables y habrá la posibilidad de extrapolar con mayor confianza los resultados obtenidos en otros medios.

## BIBLIOGRAFIA

1. ALEXANDER, R. H. Establecimiento de un sistema de digestibilidad in vitro en el laboratorio. In Paladines, O. ed. Métodos in vitro para determinar el valor nutritivo de los forrajes. Montevideo, Uruguay, IICA-Zona Sur. 1966. pp. 101-152.
2. \_\_\_\_\_, and MCGOWAN, M. The routine determination in in vitro digestibility of organic matter in forage - an investigation of the problems associated with continuous large-scale operation. J. British Grassland Society 21:140-147. 1966.
3. BARNES, R. F. Collaborative research with the two-stage in vitro rumen fermentation technique. In Proceedings of the National Conference on Forage Quality Evaluation and Utilization. Lincoln, Nebraska, USA. Nebraska Center for Continuing Education. 1970. pp. N1-20.
4. BUZY, A. y PALADINES, O. Precisión de los métodos de fermentación in vitro para predecir la digestibilidad y el consumo de forrajes por los rumiantes. Turrialba 18:397-404. 1968.
5. DEINUM, B. y VAN SOEST, P. J. Prediction of forage digestibility from some laboratory procedures. Neth. J. Agric. Sci. 17:119-127. 1969.
6. DREW, K. R. The in vitro prediction of herbage digestibility. Proc. of the N. Z. Soc. Animal Prod. 26:52-70. 1966.
7. GAILLARD, B. D. E. Calculation of the digestibility for ruminants of roughages from the contents of cell-wall constituents. Neth. J. Agric. Sci. 14:215-223. 1966.
8. \_\_\_\_\_, y NIJKAMP, H. J. Calculation of the digestibility for ruminants of roughages from their contents of cell-wall constituents. II. Time-saving method of analysis. Neth. J. Agric. Sci. 16:21-24. 1968.
9. GOERING, H. K, y VAN SOEST, P. J. Forage fiber analysis (apparatus reagents, procedures and some applications). U.S. Department of Agriculture. Handbook No 379. 1970. 20 p.

10. HARRIS, L. E., LOFGREN, G. P., KERCHER, C. J., RALEIGH, R. J. and BOHMAN, W. R. Techniques of research in range livestock nutrition. Utah Agricultural Exp. Sta. Bull. No 471. 1967. 86 p.
11. INGALLS, J. R., THOMAS, J. W., BENNE, E. J. and M. TESAR. Comparative response of wether lambs to several cuttings of alfalfa birdsfoot trefoil, brome grass and red canary grass. J. Animal Science 24:1159-1164. 1965.
12. JOHNSON, R. R. The development and application of in vitro rumen fermentation methods for forage evaluation. In Proceedings of the National Conference on Forage Quality Evaluation and Utilization. Lincoln, Nebraska, USA. Nebraska Center for Continuing Education. 1970. pp. M1-18.
13. JOHNSON, W. L. La evaluación nutritiva de los forrajes. Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú. Programa de Forrajes. Boletín Técnico No 12. 1972. 51 p.
14. \_\_\_\_\_, GUERRERO, J. y PEZO, D. Cell-wall constituents and in vitro digestibility of Napin grass. J. Animal Science. Nov. 1973a. (en prensa).
15. \_\_\_\_\_, PEZO, D., MAGUIÑA, J., CORDERO, I. y ZEPILLI, R. Valor nutritivo de alfalfa en primavera y verano en la Costa Central del Perú. In IV Reunión Latinoamericana de Producción Animal. Guadalajara, 1973b. Compendios P-20.
16. \_\_\_\_\_, PEZO, D., VILLENA, E., GONZALEZ, R. y ZEPILLI, R. Efecto del estado de madurez sobre el valor nutritivo del sorgo forrajero "Sordán 67" en verano e invierno. In IV Reunión Latinoamericana de Producción Animal, Guadalajara, 1973c. Compendios P-9.
17. \_\_\_\_\_, y PEZO, D. Forage fiber components to predict digestibility. In 65th Meeting of the Am. Soc. of Animal Sci., Nebraska, 1973d. (en prensa).
18. LUCAS, H. L., SMART, W. W. G., CIPOLLONI, N. A. y GROSS, M. D. relations between digestibility and composition of feed and foods. Raleigh, North Carolina State College 5-45 Report (Mimeo.). 13 p. 1961.
19. McLEOD, M. N. y MINSON, D. J. Sources of variation in the in vitro digestibility of tropical grasses. J. British Grassland Society 24:244-249. 1969.
20. MELVILLE, J. Animal products and their competitors. In 8th. Int. Grassland Congress. Proceedings, Reading, England. 1960. pp. 35-40.

21. MOTT, G. O. Forage evaluation techniques in perspective. Proc. of the National Conference on Forage Quality Evaluation and Utilization. Lincoln, Nebraska Center for Continuing Education. 1970. pp. L1-10.
22. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Nutrient requirements of dairy cattle. 4th. Ed. Washington, D.C., National Academy of Sciences. 1971. 54 p.
23. OH, HI KON, BAUMGARDT, B. R. and SCHOOL, J. M. Evaluation of forages in the laboratory. VI. Comparison of chemical analyses, solubility test and in vitro fermentation. J. Dairy Sci. 49:850. 1966.
24. PEZO, D. Efecto del distanciamiento, fertilización nitrogenada y frecuencia de corte sobre el rendimiento y calidad en pasto Elefante (Pennisetum purpureum Schum.). Tesis, La Molina, Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria. 1969. 173 p. (Mimeo.).
25. \_\_\_\_\_. Análisis de fibra en forrajes. Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú. Programa de Forrajes. Boletín Técnico Nº 10. Traducción USDA Handbook 379. 1972. 41 p.
26. \_\_\_\_\_, y GOYZUETA, I. CPC y DIVMS en bagazo de caña tratado con NaOH y sin tratar. Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú. Programa de Forrajes. Informe Interno de Laboratorio. Diciembre 1971. 6 pp.
27. RAYMOND, W. F. The nutritive value of forage crops. Advances in Agronomy 21:1-108. 1969.
28. \_\_\_\_\_, and TERRY, R. A. Studies of herbage digestibility by an in vitro method. Outlook on Agriculture 5:60-68.
29. SMITH, G. S., NELSON, A. B. y BOGGINO, E. J. A. Digestibility of forages in vitro as affected by content of silica. J. Animal Science 33:366-451. 1971.
30. TILLEY, J. M. A., DERIAZ, R. E. y TERRY, R. A. The in vitro measurement of herbage digestibility and assesment of nutritive value. In. 8th. Int. Grassland Congress. Proceedings, Reading, England. 1960. pp. 533-537.
31. \_\_\_\_\_, and TERRY, R. A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. Brit. Grassl. Soc. 18:104-111. 1963.
32. \_\_\_\_\_, and TERRY, R. A. Procedure for the in vitro digestion of herbage samples. Grassland Research Institute, Hurley, Inglaterra. (Mimeo.). 23 p. 1968.

33. VAN DYNE, G. M. and HAUG, P. T. Variables affecting in vitro rumen fermentation studies in forage evaluation: An annotated bibliography. Oak Ridge National Laboratory. TM-1973. (Mimeo.). 1968.
34. VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content. J. Ass. of Agricultural Chem. 46:825-829. 1963a.
35. \_\_\_\_\_. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. J. Ass. Off. Agr. Chem. 46:829-835. 1963b.
36. \_\_\_\_\_. Symposium on nutrition and forage and pasture: New Chemical procedures for evaluating forages. J. An. Sci. 23:838-845. 1964.
37. \_\_\_\_\_. Use of detergents in analysis of fibrous feeds. III. Study of effects of heating and drying on yield of fiber and lignin in forages. J. Assoc. Off. Agr. Chem. 48:785-790. 1965.
38. \_\_\_\_\_. Non nutritive residues: a system of analysis for the replacement of crude fiber. J. Ass. Off. Agr. Chem. 49:547-551. 1966.
39. \_\_\_\_\_. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. J. Animal Sci. 26:119-128. 1967a.
40. \_\_\_\_\_. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell wall constituents. J. Ass. Off. Agr. Chem. 50:50-55. 1967b.
41. \_\_\_\_\_. The chemical basis for the nutritive evaluation of forages. In. Proceedings of the National Conference on Forage Quality Evaluation and Utilization. Lincoln, Nebraska, USA. Nebraska Center for Continuing Education. 1970. U1-19.
42. \_\_\_\_\_, ABRUNA, F. y CARO COSTAS, R. The composition and in vitro digestibility of Puerto Rican grasses. Cornell University, Ithaca, N.Y. Department of Animal Sci., Internal Report. (Mimeo.). 22 p. 1971.
43. \_\_\_\_\_, y JONES, L. H. P. Effect of silica in forages upon digestibility. J. Dairy Sci. 51:1644-1648. 1968.
44. \_\_\_\_\_, y LOVELACE, F. E. Solubility of silica in forages. (Abstract). J. Animal Sci. 29:182. 1969.
45. \_\_\_\_\_, y MOORE, L. A. New chemical method for analyses of forages for the purpose of predicting nutritive value. 9th. Grassland Congress. Proceedings Sao Paulo, Brasil. 1964. pp. 785-789.

46. VAN SOEST, P. J. y WINE, R. H. The determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. J. Ass. Off. Agr. Chem. 51:780-785. 1968.
47. \_\_\_\_\_, WINE, R. H. y MOORE, L. A. Estimation of the true digestibility of forages by the in vitro digestion of cell walls. 10th. Int. Grassland Congress. Proceedings. Helsinki, Finlandia. 1966. pp. 438-441.

10 de julio de 1974

CT/DG-922

DP/sm.