



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

RELACIÓN ENTRE MATERIA SECA DEGRADADA *in situ* A 48 h DE INCUBACIÓN RUMINAL, Y MATERIA SECA DEGRADADA POR EBULLICIÓN EN SOLUCIÓN 1 N de KOH, EN ALIMENTOS PARA OVINOS.

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

KATYA NASHUIN VELAZQUEZ MACIEL

Asesores

PhD. Epigmenio Castillo Gallegos

MVZ. Cristino Cruz Lazo



Ciudad Universitaria Cd. Mx.

2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres y hermanos por ser la familia que somos, por ser una fortaleza, un lugar seguro cuando ningún otro sitio lo es, por que una mano no funciona igual si le falta un dedo, gracias papá por hacerme entender eso, gracias mamá por tus cuidados y a ustedes dos, Nadia y Victor, porque la vida sin hermanos no tiene el mismo sentido.

A Botita, por todo tu esfuerzo, amor, paciencia y todos tus cuidados, por acompañarme a estudiar por las noches después de tus largas jornadas de trabajo, infinitas gracias abuela.

A mi mejor amigo, mi guía, mi cómplice, gracias por estar siempre para mí, por ser mi respaldo, gracias por confiar en mí y por nunca haber dejado de ser parte de mi historia aun en la distancia, gracias papá Jorge

Karlita gracias por ser mi amiga, mi consejera, mi apoyo incondicional y por creer en mí, por ser la tía más consentidora del mundo y por hacerme entender las lecciones de la vida siempre de la mejor manera.

Gracias Coco por siempre estar lista para reconfortarme con el mejor sazón.

Y en especial a tí, Litchita, por demostrarme tu amor en cada acto, por confiar en mí aun cuando yo no lo hacía, por alentarme siempre a intentar cosas nuevas, por enseñarme todo lo que sabes, por ser parte de mi universo..... Para toda la vida.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y a la FMVZ por cada herramienta que me brindo para mi superación profesional y personal.

A mis tutores y al personal del Cenzontle por su guía y apoyo en cada paso de este proyecto, especialmente al Doctor Epigmenio por ser tan paciente y por hacer su trabajo con tanto amor.

CONTENIDO

	Página
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Material y métodos.....	14
Resultados.....	19
Discusión.....	23
Conclusiones.....	28
Referencias.....	29

Índice de cuadros

Cuadro	Título	Páginas
1.	Diseño de cuadrado latino 3 x 3 repetido en tiempo, empleado en la presente investigación.	18
2.	Medias y errores estándar de los contenidos de fibra en detergente neutro (FDN, %), fibra en detergente ácido (FDA, %) y lignina (LIG, %), así como proteína cruda (PC, %) de los tres alimentos estudiados.	19
3.	Prueba de efectos fijos tipo 3, por cada parámetro del modelo exponencial de Mehrez y Ørskov (1977).	20
4.	Comparación de medias de cuadrados mínimos de tratamientos, mediante la prueba de 't', para cada parámetro de la ecuación de D_{IS} .	21
5.	Parámetros del modelo de regresión lineal simple, aplicado individualmente a los seis pares de datos $DE_{48}-S_{KOH}$ de cada alimento, ofrecido a corderos pelibuey en el trópico húmedo del estado de Veracruz, México.	22

Índice de figuras

Figura	Título	Página
1.	Curvas de digestión <i>in situ</i> de tres alimentos empleados en la alimentación de ovinos en el trópico húmedo del estado de Veracruz, México, elaboradas con las medias de cuadrados mínimos de los parámetros de la curva de D_{IS} .	21
2.	Relación entre digestibilidad efectiva a 48 h de incubación ruminal (DE_{48} , %) y digestibilidad por solubilidad en KOH, (S_{KOH}) en tres alimentos ofrecidos a ovinos en el trópico húmedo del estado de Veracruz, México.	23

RESUMEN

VELAZQUEZ MACIEL KATYA NASHUIN. Relación entre materia seca degradada *in situ* a 48h de incubación ruminal, y materia seca degradada por ebullición en solución 1N de KOH, en alimentos para ovinos (bajo la dirección de Dr. Epigmenio Castillo Gallegos y MVZ. Cristino Cruz Lazo).

En la alimentación animal es de suma importancia conocer los valores nutricionales de las dietas. Existen diferentes métodos para calcular estos valores, pero la mayoría son costosos y lentos, además de emplear animales para su determinación. En este experimento se evaluaron dos métodos diferentes para determinar la digestibilidad de la materia orgánica en tres diferentes alimentos. El experimento se realizó en el Módulo de Producción Ovina (El Cenzontle) del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT). Se determinó la digestibilidad *in vitro* usando hidróxido de potasio al 5%, y la digestibilidad *in situ* para la cual se utilizaron tres borregos pelibuey fistulados al rumen, con peso y edades iniciales promedio de 42 kg y doce meses, a los cuales se les ofreció diariamente alimento para cubrir sus requerimientos nutricionales. La composición de la dieta fue: 25% de bagazo de cítricos húmedo, 30% de concentrado comercial y el resto fue pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*) fresco, y heno de pasto. Para estimar la digestibilidad *in situ* se incubaron diferentes muestras de alimento en el rumen de los 3 animales durante 3, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 horas. El estudio probó que el poder predictivo del método de solubilidad en KOH (S_{KOH}) al 5% fue de bajo a moderado sobre los tres alimentos utilizados. De acuerdo con otros autores, estos métodos podrían ser estimadores confiables de la digestibilidad haciendo las modificaciones necesarias a la técnica, ya que además de sus bajos costos, podría ser una buena alternativa para no continuar con la experimentación en animales.

INTRODUCCIÓN

Se han desarrollado diversos métodos *in vitro* para la estimación rutinaria de la digestibilidad de materia orgánica (DMO) de los alimentos, particularmente en lo referente a comparar la calidad de diferentes pastos y forrajes, o bien distintos subproductos agroindustriales empleados como suplementos al ganado en pastoreo. Tal es el caso de la digestibilidad *in vitro* de Tilley y Terry (1963) y la digestibilidad *in situ* descrita por Mehrez y Ørskov (1977). Asimismo, se han desarrollado modelos cuyo fin es pronosticar la DMO y la EM a partir de su composición química (Weiss *et al.*, 1992).

En su mayoría, los métodos *in vitro* simulan la digestión del rumiante, pues primero los alimentos se incuban en fluido ruminal amortiguado o en distintos sistemas enzimáticos (celulasas y hemicelulasas) (Tilley and Terry, 1963; McLeod and Minson, 1978). Kesting (1978) propuso un método simple que consiste en solubilizar la muestra de alimento hirviéndola por diez minutos en una solución de KOH.

Según la investigación de Vencl y Flam (1981), la digestibilidad *in vitro* fue más precisa que la solubilización por KOH para pronosticar la digestibilidad *in vivo*. Por el contrario, Antoniewics *et al.* (1996) empleando 70 forrajes secos, 33 forrajes ensilados y 7 mezclas, encontraron una relación lineal significativa ($P \leq 0.0001$) entre la DMO por KOH (DMO_K ; x , %) y la DMO *in vitro* (DMO_V ; y , %), siendo la ecuación para todas las muestras ($n = 110$): $y = 0.93x + 5.7$, $R^2 = 0.75$, es decir, el 75% de la variación en DMO_V fue explicado por la DMO_K .

1. Las gramíneas tropicales en la alimentación de rumiantes.

Las especies forrajeras se dividen principalmente en gramíneas y leguminosas. Las gramíneas comprenden aproximadamente 75% de las plantas forrajeras, existen 700 géneros de gramíneas con 10.000 especies, entre los cuales se encuentran los géneros *Brachiaria*, *Panicum*, *Cynodon*, *Sorghum*, *Andropogon* y *Paspalum*, representados por las especies y variedades: Para, Insurgentes, Mulato, Guinea, Tanzania y Bermuda. Los principales forrajes perennes de corte corresponden a los géneros *Pennisetum* y *Sorghum*, representados por las especies y variedades: de Maralfalfa, King Grass y Maicena (Rodríguez *et al.*, 2013; Cardona *et al* 2012).

En México la producción de especies forrajeras comprende los estados de Tabasco, Campeche, Veracruz, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, con superficies diversas, y en algunos casos no estimadas (Enríquez *et al.*, 2015).

Los pastos constituyen la principal fuente de alimentación de los rumiantes ya que crecen de manera habitual en los potreros y se adaptan muy fácilmente a las variantes del clima; además de aportar la mayor parte de la materia seca y los carbohidratos consumidos por el animal, representa el alimento con menor costo de producción para la alimentación de rumiantes en el trópico (Sandoval *et al.*, 2003; Cardona *et al.*, 2012; Molano 2012).

La calidad de los forrajes tropicales, por ende el contenido de proteína, es afectada negativamente por diversos factores, como el estado de crecimiento de la planta, la baja fertilidad y acidez de los suelos tropicales, el manejo, la estacionalidad ocasionada por la distribución no uniforme de la precipitación y el manejo deficiente de las praderas, que ocasiona su agotamiento debido al pastoreo excesivo, lo que se refleja en invasión de malezas. Uno de los factores

limitantes de las gramíneas tropicales nativas en general es su bajo contenido de proteína y baja digestibilidad lo cual influye negativamente en el consumo y por ende en la producción animal (Molano 2012; Rodríguez *et al.*, 2006; Barrón *et al.*, 2013). Alcanzan rendimientos de materia seca de entre 6 y 9 ton/ha/año, en temporal y 15 a 35 ton/ha/año con riego; y un contenido de nutrientes por el rápido crecimiento y lignificación 4 a 8% de proteína cruda; 17.9% a 35.31% de fibra cruda y 40 a 55% de digestibilidad (Rodríguez *et al.*, 2013).

Los carbohidratos estructurales, forman parte de las paredes celulares vegetales que les da rigidez y estructura, entre estos encontramos celulosa y hemicelulosa ligados a lignina, principales componentes de los forrajes, representando un 45-80% de la materia seca y a excepción de la lignina constituyen la principal fuente de energía para el rumiante (Molano2012). Dependiendo de la edad y especie, puede variar su contenido de lignina, estando en un rango de 2 % hasta un 15 %; el contenido de hemicelulosa varía ampliamente de entre 6 % a 40 % de la materia seca, y la celulosa que es el componente más importante de la pared celular, se encuentra en un rango de 15 a 50 % de la materia seca (Cardona *et al.*, 2012).

En ovinos, el consumo voluntario diario de estos forrajes es menor al 3% del PV, esto es debido a la estructura de la pared celular (FDN) y bajo contenido de proteína bruta. Un bajo contenido de PB limita la actividad microbiana debido a la escasez de nitrógeno, mientras que el componente de FDN con un alto contenido de lignina y celulosa ocasiona un proceso de rumia más extenso alargando el tiempo de retención de la ingesta en el complejo retículo-rumen y con mayor distensión ruminal, causando que el animal se sienta lleno y limite su consumo voluntario (Rodríguez *et al.*, 2006).

La gran limitante para el desarrollo sostenible de la ovinocultura, es el desconocimiento de valor nutricional de los principales recursos forrajeros disponibles, pero principalmente el desconocimiento de las fuertes fluctuaciones que estos presentan por las condiciones agroclimáticas y de manejo a los que son sometidos (Rodríguez *et al.*, 2013).

2. Suplementos utilizados en la ganadería tropical.

La zona tropical de México, representa 33% de la superficie nacional y comprende más del 50% del área para ganadería, contribuyendo en gran proporción a la producción nacional de carne. Tiene una amplia gama de especies forrajeras nativas donde se comprenden principalmente los géneros *Paspalum* y *Axonopus* (Jarillo *et al.*, 2011; Mijares *et al.*, 2012).

A pesar de su baja calidad, los pastos nativos son la fuente de forraje más importante en los sistemas pecuarios debido a su adaptación al medio ambiente. Sin embargo, existe una baja disponibilidad y calidad nutricional de forraje principalmente en época seca y de "nortes", que trae como consecuencia inestabilidad en la producción animal en pastoreo (Jarillo *et al.*, 2011; Mijares *et al.*, 2012).

La calidad, además de variaciones en las condiciones ambientales (suelo, clima, fertilizaciones), también depende del material genético, del manejo, las diferentes fracciones de la planta (hoja, tallo, fruto) y las distintas etapas de crecimiento. A medida que la planta madura, se incrementa el contenido de fibra y se reduce la proteína cruda, se ha encontrado que existe una correlación negativa entre la materia seca y la digestibilidad *in vitro*. Por estas razones, es necesario buscar alternativas de suplementación para satisfacer las

necesidades del animal, tanto en cantidad como en calidad. (Jarillo *et al.*, 2011; Mijares *et al.*, 2012).

La FAO (1995) menciona cuatro categorías principales de alimentos en las regiones tropicales:

- a) Los residuos fibrosos de los cultivos para la producción de alimentos humanos como la paja y rastrojo de cereales, principalmente de arroz, sorgo, mijo y maíz.
- b) Recursos de alimentación derivados de cultivos fuentes de energía renovable como los productos y subproductos derivados de la caña de azúcar, la palma de aceite de África, el árbol de palma de azúcar, o de usos múltiples (leguminosas), estos son ricos en energía fácilmente disponible y ricos en PC.
- c) Los pastos nativos, proporcionan la mayor parte de la alimentación de los rumiantes.
- d) Otros subproductos y residuos de cultivos agrícolas y sistemas de cultivo como los subproductos de oleaginosas y de la molienda de cereales.

La estrategia usual es usar principalmente recursos locales provenientes de las áreas adyacentes, de las agroindustrias regionales y nacionales, etc. Se debe tener en cuenta, además del valor de mercado de los complementos, los costos de transporte, almacenamiento y distribución que, de implementarse a gran escala, necesitarán una logística y una organización (FAO, 1999).

En Veracruz existen diversas alternativas de complementación alimenticia, algunas de ellas son: la conservación de forraje en forma de heno o ensilados, la siembra de leguminosas para formar bancos de proteína, el uso de subproductos agroindustriales como el grano de cervecería, la cascara de cítrico, cascara de pina, residuos de pan, etc. (Cruz, 2012).

2.1 Bagazo de cítricos.

El bagazo de cítricos es el subproducto resultante de la extracción del jugo de cítricos como naranja, limón, toronja, etc. En el proceso de extracción del jugo, la pulpa presenta un 60% del peso fresco del producto a exprimir, aunque la variabilidad del dato es elevada: 49-69%. La pulpa resultante está formada por la piel: 60-65%, segmentos del fruto: 30-35% y semillas: 0-10%.(Vázquez, 2017, FEDNA)

Es clasificado como un subproducto alimenticio altamente concentrado de energía. La composición química de la pulpa de cítricos depende de su origen (naranja, limón, etc.). Contiene 82% de nutrientes digestibles totales (TND), equivalente a 2,67-2.97 Mcal de EM/kg MS, en promedio muestra un gran porcentaje de carbohidratos fermentables y contenidos bajos de PC (6 a 8%), FDN (26.9-37.8%) y FDA (23-26%) en base seca, siendo esta fibra poco efectiva (33%) para el rumiante. El contenido en lignina es muy bajo y el de cenizas de un 5%, de la materia seca. (Vázquez, 2017, FEDNA).

La palatabilidad de la pulpa de cítricos es buena, tiene una digestibilidad elevada Su fermentación ruminal es típicamente acética. Entre las características de la proteína de la pulpa de cítricos cabe destacar su elevada solubilidad (35-40%), una degradabilidad efectiva del orden del 65% y una velocidad de degradación del 6%/h. La digestibilidad intestinal de la proteína que escapa de la degradación ruminal es del 85% (FEDNA).

El contenido medio en materia seca de la pulpa es de un 20%. No se observan diferencias significativas en la composición química correlacionadas con el contenido de materia seca, aunque este es variable. La forma de utilización de este subproducto puede ser en fresco, ensilado o deshidratado. En el proceso de deshidratación se añade sodio o hidróxido de calcio para aumentar el pH y facilitar el procesado. Por esa razón, la pulpa de cítricos fresca suele tener un contenido de calcio menor respecto a la pulpa deshidratada. El uso de pulpa de cítricos húmeda es casi exclusivo para el rumiante, y solo se justifica en zonas cercanas al centro de producción por el costo de transporte (FEDNA).

Se ha reportado que el uso de bagazo de cítrico en rumiantes, específicamente el ensilado de pulpa de cítricos, pulpa de cítricos deshidratada, bagazo de cítricos y cáscara de cítricos, pueden sustituir la fibra y parcialmente el concentrado de dietas tradicionales a un mismo porcentaje de inclusión, mantiene tasas de crecimiento y rendimiento similares, no afectan los componentes organolépticos de la carne y generan un menor costo de alimentación por kg de ganancia de peso corporal, representando así una ventaja económica para los productores y una alternativa de complemento energético (Vázquez, 2017).

2.2 Concentrados comerciales.

Los alimentos concentrados son comúnmente usados en la suplementación de la dieta de los rumiantes para proporcionar tanto energía como proteína y ayudan a cubrir los requerimientos nutricionales durante el crecimiento y la lactancia. Los concentrados se caracterizan por un bajo contenido de fibra y alta concentración de energía, además pueden presentar concentraciones altas o bajas de proteína cruda. (Pérez, 2014; González *et al.*, 2015).

Los concentrados comerciales son mezclas de varios ingredientes, pero generalmente se emplean ingredientes energéticos como los granos de cereales y

energético-proteícos como las oleaginosas. Los granos de cereales son alimentos energéticos que contienen menos del 12% de proteína cruda, por otro lado, las harinas de semillas oleaginosas son fuentes de proteína que pueden llegar a tener concentraciones de hasta 50% de proteína cruda (Pérez, 2014).

A diferencia de los forrajes, los concentrados tienen bajo volumen por unidad de peso y nos son capaces de estimular la rumia de manera adecuada. Usualmente se fermentan más rápido que los forrajes en el rumen, aumentando la acidez del rumen lo cual puede interferir con la fermentación normal de la fibra o favorecer la acidosis en el animal al proporcionarse en exceso. El uso de concentrados energéticos y proteicos mejora las características medioambientales del rumen maximizando la síntesis de proteína microbiana, y disminuyendo importantes pérdidas de nitrógeno en heces y orina. Son alimentos con alta palatabilidad por lo cual son ingeridos rápidamente por los animales (Pérez, 2014; González *et al.*, 2015).

3. Características digestivas de los rumiantes.

Los rumiantes se caracterizan por su capacidad para alimentarse de pasto o forraje. Esta característica se basa en la posibilidad de poder degradar los carbohidratos estructurales del forraje, como celulosa, hemicelulosa y pectina, muy poco digestibles para las especies de estómago simple o no-rumiantes. La degradación del alimento se realiza mayoritariamente por digestión fermentativa y no por acción de enzimas digestivas, y los procesos fermentativos los realizan diferentes tipos de microorganismos a los que el rumiante aloja en sus divertículos estomacales (DE). Por esta razón debemos tener presente que al alimentar a los rumiantes primero estamos alimentando a los microorganismos rúmiales, y que para su buen desarrollo debe existir un medio ruminal favorable. De esta forma hay una simbiosis entre las bacterias y el animal (Gutiérrez, 2015; Relling *et al.*, 2013)

3.1 Ambiente ruminal y su degradabilidad.

Para realizar los procesos digestivos, los animales disponen de un sistema especializado (sistema digestivo), el cual presenta un esquema estructural muy similar en todos los animales (boca, esófago, estómago, intestino delgado, intestino grueso y glándulas anexas como el páncreas y el hígado). Sin embargo, a pesar de esta similitud estructural, existen diferencias en el desarrollo de los procesos digestivos en las distintas especies animales. Estas diferencias surgen como una consecuencia directa de la adaptación filogenética del canal digestivo para la degradación de los principales elementos nutritivos que componen su dieta natural (Dearriba, 1988).

En el rumen se realiza una digestión pregástrica a través de la actividad microbiana, dando como resultado la formación de nutrientes necesarios para las funciones básicas del animal (Boenker, 1989). Aproximadamente hasta 80% del alimento consumido sufre una degradación química en el rumen a través de las enzimas secretadas por los microorganismos ruminales (Bondi, 1989), obteniendo como productos finales AGV, bióxido de carbono, metano, amoníaco y proteína celular (Hungate, 1966; Huntington, 1988; Orskov, 1986; Bondi, 1989; Wallace, 1993; Schettini *et al.*, 1999).

Anatómicamente el tubo digestivo de los rumiantes puede ser dividido en tres compartimentos, cada uno con características propias y particulares: retículo-rumen, omaso y abomaso e intestino delgado e intestino grueso. En el rumen y en el intestino grueso la digestión ocurre por acción microbiana, en tanto que, en el intestino delgado diferentes complejos enzimáticos del rumiante degradan los componentes del alimento. De igual manera en el contenido ruminal pueden ser distinguidos dos sub-compartimentos con diferentes características de degradación y pasaje: una fase líquida y una fase sólida en la que se evidencia la presencia de partículas con rápidas tasas de pasaje y degradación (que son comunes en alimentos concentrados) y partículas que presentan prolongados

tiempos de retención y lenta degradación (principalmente en forrajes) (Rosero y Posada, 2007, Gutiérrez, 2015).

4. Digestibilidad *in situ*.

Durante el proceso digestivo, una porción de los carbohidratos estructurales pueden ser hidrolizados, fermentados y degradados por microorganismos ruminales, lo que permite al animal aprovechar los productos finales como los ácidos grasos y el amoníaco principalmente, así como una parte de la proteína dietética.

Una vez degradados los nutrientes de los forrajes, la digestibilidad hace referencia a la cantidad de alimento que desaparece en el tracto digestivo o en un procedimiento de laboratorio debido a su solubilización o ataque por los microorganismos anaerobios ruminales (Giraldo, *et al*, 2007; Torres, *et al*, 2009).

Dentro de las técnicas empleadas para la evaluación de alimentos, el estudio evaluación de la degradabilidad de alimentos *in situ*, con el empleo de bolsas de nylon colocadas en el rumen de animales canulados es una de las técnicas que mejores resultados ha brindado a lo largo de los últimos años. Esta técnica permite evaluar la dinámica de la degradabilidad ruminal mediante el estudio de la fracción del alimento que desaparece de la bolsa en el tiempo (Vázquez, 2017, Osman, *et al*, 2016).

Este método ha ganado gran aceptación cuando se requiere medir la digestibilidad aparente de la materia seca, fibra, y nitrógeno, debido principalmente a la rapidez con que se pueden generar resultados y porque no demanda de equipos y materiales que requieren las otras técnicas. Sin embargo, la utilidad y confiabilidad de esta técnica depende de factores, tales como la cantidad de la muestra, del tamaño de la bolsa y de la partícula de la muestra (Torres, *et al* 2009).

4.1 Modelo de Orskov.

Varios han sido los modelos que se han propuesto para describir las curvas de degradabilidad ruminal *in situ*, siendo el modelo de Orskov (1979) el de mayor aplicación en este tipo de investigaciones. Una de las ventajas del modelo de Orskov es que permite la interpretación biológica del proceso a través de sus parámetros, ya que es un modelo mecanicista. Estos parámetros han tratado de emplearse desde el inicio de la aplicación de esta técnica, en los diseños experimentales.

Múltiples han sido las investigaciones en la que se ha intentado realizar la comparación de parámetros de curvas de degradabilidad ruminal obtenidas en experimentos donde se han aplicado diferentes tratamientos al alimento que se evalúa (Osmany, *et al*, 2016).

La estimación de la degradabilidad efectiva en el rumen es quizá el cálculo más importante en el estudio de la cinética ruminal dado que permite establecer la proporción de fracciones nutricionales que son degradadas y aquellas que no logran degradarse en el rumen. La estimación correcta de este parámetro es necesaria para un adecuado manejo nutricional de los rumiantes y, en consecuencia, para una mejor utilización de los nutrientes. Orskov y McDonald (1979) describieron un modelo exponencial para estimar la degradabilidad ruminal de los nutrientes en función del tiempo de permanencia en el rumen con base en datos obtenidos por la técnica de degradación *in situ*:

$$DRb_t = a + b(1 - \exp^{-kd* t})$$

Donde:

DRbt es la degradabilidad ruminal de la fracción b en el tiempo

a es la fracción soluble que es completamente degradable en el rumen

b es la fracción potencialmente degradable en el rumen,

kd es una constante

t es el tiempo de permanencia en el rumen (Correa 2008).+

La DMS o DMO del alimento es un factor determinante del contenido de energía metabolizable (EM) de los alimentos para rumiantes. La cuantificación precisa de la DMO puede realizarse *in vivo* con animales en pruebas de balance, siempre y cuando el tipo de animal sea el adecuado (Schneider *et al.*, 1975).

La relación entre digestibilidad *in vivo* y digestibilidad *in vitro* e *in situ* es alta, generalmente en el rango 0.85 – 0.95, por lo que son las opciones a escoger para pronosticar económicamente a la primera. Lo mismo podría afirmarse de la producción de gas *in vitro* (Menke *et al.*, 1979). Sin embargo, su implementación es costosa por la gran cantidad de materiales, equipo de laboratorio y animales que requieren, además de no ser tan rápidas, por ejemplo, en la técnica *in situ* utilizada en nuestro laboratorio, se requieren al menos dos animales fistulados y una corrida que dura alrededor de una semana para procesar por triplicado, 22 muestras, un blanco y un estándar. Esto hace muy deseable tener una técnica *in vitro* simple, rápida y económica.

Tomando en consideración lo simple y rápido del método de DMO de Kesting (1978), así como su precisión para pronosticar DMO *in vitro* e *in vivo*, es recomendable utilizarlo para comprar rutinariamente diversos forrajes y alimentos para rumiantes.

5. Digestibilidad *in vitro*.

La búsqueda para hacer más eficiente, rápido y económico el proceso para estimar la digestibilidad, ha llevado al desarrollo del método *in vitro* de Goering y Van Soest usando diferentes equipos como el DaisyII®- Ankom Technology, que permite la incubación simultánea de hasta 100 muestras diferentes, distribuidas en cuatro

jarras, mantiene el calor uniforme y la agitación constante durante el procedimiento de incubación. Con este método, el material que desaparece de las bolsas durante la incubación es considerado digerible. Es un método rápido, seguro, eficiente y económico y los datos obtenidos de digestibilidad para distintos alimentos, tienen una alta correlación con los obtenidos por el método convencional de Tilley y Terry y con la técnica *in situ* o de la bolsa de nylon. Dichas pruebas son costosas y requieren mucha mano de obra y tiempo, además, hay que seleccionar cuidadosamente a los animales a partir de rebaños grandes.

El objetivo de la presente investigación fue determinar la relación entre la digestibilidad *in situ* (D_{IS}) y la digestibilidad por KOH (D_{KOH}) en tres alimentos del ganado ovino en la región centro-norte del estado de Veracruz, mediante la comparación entre medias de la digestibilidad *in situ* y la digestibilidad obtenida en laboratorio con soluciones de KOH al 5% con el fin de reducir costos y disminuir el uso de animales en la determinación de la digestibilidad.

MATERIALES Y METODOS

El experimento se realizó en el Módulo de Producción Ovina (El Cenzontle) del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT), que cuenta con 30 ha, y se ubica sobre la carretera Federal 129, en el km 5.5 del tramo Martínez de la Torre a Tlapacoyan. Su situación geográfica es 20°02'34" latitud norte, 97°06'22" longitud oeste y una altura que varía de 105 a 124 msnm. El clima es cálido y húmedo sin estación seca definida, clasificado según García (1981) como Af(m), cuya temperatura y precipitación media anual son 23.5°C y 1991 mm, respectivamente. Sus suelos son Ultisoles ácidos de baja fertilidad (Castillo *et al.*, 2005).

Componentes químicos de los alimentos.

Las muestras de los alimentos se tomaron directamente del envase de concentrado comercial; de la pila de almacenamiento al aire libre la muestra del bagazo de cítricos húmedo, y la muestra del heno de gramíneas de las pacas almacenadas. Los alimentos se secaron en estufa de aire forzado a 62 °C hasta peso constante y luego se molieron en un molino Wiley # 4 con una criba de 2 mm. Una vez realizado esto, se analizó su contenido de proteína cruda (PC = % N x 6.25) según el método de Kjeldahl de la AOAC (Horowitz and Latimer, 2006) además de la concentración de fibra en detergente neutro (FDN, %), fibra en detergente ácido (FDA, %) y lignina en ácido sulfúrico al 72% previa extracción con FDA (LAD), según los métodos de Van Soest *et al.* (1991).

Digestibilidad *in situ*.

Se emplearon 3 ovinos pelibuey fistulados al rumen, con peso y edades iniciales promedio de 42 kg y doce meses. Los borregos se alojaron en una corraleta individual en una galera techada con dimensiones de 1.5 m x 2 m cada una, con piso de concreto y provistas con comedero y bebedero. A las 9 AM se ofreció diariamente alimento a los animales para cubrir sus requerimientos diarios de MS. La composición de su dieta fue: 25% de bagazo de cítricos húmedo, 30% de concentrado comercial y el resto fue pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*) fresco, y heno de pasto. El alimento rechazado se colectó y pesó diariamente, para calcular el consumo diario y verificar que los animales tuvieran un consumo normal.

La digestibilidad *in situ* se realizó de la siguiente forma: 1) Se contó con muestras secas y molidas (1 mm) bagazo de cítricos húmedo, concentrado comercial y heno de gramíneas; 2) Se pesaron 0.8 g en bolsas de nailon con poro de 45 micras de 10 cm x 5 cm por duplicado; 3) Por cada combinación de alimento y borrego, se

tuvieron muestras que se incubaron en el rumen por 3, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 horas; 4) Las bolsas de fueron colocando en el rumen de manera inversa, es decir, primero las de 72 horas, luego las de 48 horas y así sucesivamente; 5) Pasadas las 72 horas se retiraron todas las bolsas del rumen, se colocaron en agua de hielo para detener la fermentación microbiana; 6) En el laboratorio se enjuagaron y luego se secaron en una estufa de aire forzado a 60°C por 72 horas; 7) La digestibilidad *in situ* se estimó con la fórmula: $D_{IS} = [(peso\ inicial - peso\ final)/peso\ inicial]*100$.

Solubilidad en KOH.

El método de solubilidad en KOH se llevo a cabo de la siguiente manera: 1) Se pesan 3 g de muestra seca y molida en un vaso de precipitados de 600 mL y se humedecen con unas gotas de agua destilada; 2) Se agregan 200 mL de solución KOH al 5% y se lleva a ebullición por 10 minutos; 3) Posteriormente se lava con agua (corriente) 3 veces; 4) El agua excedente se elimina por succión en un embudo cubierto con gasa (porosidad < 0.056 mm); 5) Se deposita el residuo en un crisol Gooch, y se seca a 105 °C por 5 horas; 6) Se deja enfriar y se pesa el crisol Gooch; 7) Se lleva a cabo la incineración en una mufla a 600 °C; 8) Se pesan los crisoles Gooch una vez enfriados; 9) La diferencia entre ambos pesajes representa el residuo insoluble en KOH.

Las pruebas de solubilidad en KOH (S_{KOH}) se llevaron a cabo en el laboratorio de nutrición del CEIEGT, realizando modificaciones a la técnica original, que se describen a continuación: 1) Se pesaron 0.9 g de muestra de los tres alimentos en bolsas filtrantes de nailon con poro de 25 micras marca ANKOM[®], cada una por duplicado, incluidas bolsas con muestra estándar y bolsas testigo; 2) Posteriormente se sumergieron en 200 ml de solución de KOH al 5% y se sometieron a ebullición por 10 minutos; 3) Luego se enjuagaron; 4) Se secaron a

72°C por 24 horas; 5) Se pesaron y se obtuvo la solubilidad KOH con la fórmula:
 $S_{\text{KOH}} = [(\text{peso inicial} - \text{peso final})/\text{peso inicial}] * 100$.

Diseño experimental y análisis estadístico.

Los valores de D_{IS} para los distintos tiempos de incubación se ajustaron al modelo de Mehrez y Orskov (1977) el cual es: $y = a + b(1 - e^{-cx})$, donde: 'y' es la degradación (%) al tiempo 'x' (horas); 'a' es la materia seca rápidamente degradable (%) cuando 'x = 0'; 'b' es la materia seca lentamente degradable (%) cuando 'x tiende a infinito'; 'c' es la tasa fraccionaria de degradación de 'b' (%/h) y 'e' es la base de los logaritmos naturales. El ajuste se realizó con el software PadPrism® v. 7.05 (Motulsky, 2018).

Los valores estimados de D_{IS} a 48 horas de incubación ruminal ($D_{\text{IS}48}$, %), se convirtieron a digestibilidad efectiva (DE_{48} , %), considerando la tasa de pasaje, según lo recomendado por McDonald y Ørskov (1979), con el fin de no sobreestimar la digestibilidad. Las tasas de pasaje consideradas fueron: 6 %/h para el concentrado, 5 %/h para el bagazo de cítricos húmedo (Silva *et al.*, 1997), y 3 %/h para el heno de gramínea (Mgheni *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2011; Lagasse *et al.*, 1990). El valor de DE_{48} se obtuvo de la siguiente manera: 1) Se calcularon las D_{IS} a 72 y 48 horas, $D_{\text{IS}72}$ y $D_{\text{IS}48}$, respectivamente; 2) Se calculó la degradación efectiva (DE, %); 3) Se calculó el cociente $D_{\text{IS}48}/D_{\text{IS}72}$; 4) Se multiplicó este último cociente por la DE y el resultado fue la DE_{48} , valor que se relacionó con la digestibilidad por solubilización en KOH (D_{KOH}).

Se utilizó un diseño de cuadrado latino 3 x 3 repetido dos veces en tiempo en el caso de la D_{IS} , en el que las columnas fueron los animales y las hileras los periodos con duración de 14 días cada uno, de los cuales, los últimos tres días se emplearon para la prueba de digestibilidad *in situ* (ruminal) de la materia seca. Los

tratamientos fueron los tres alimentos utilizados, y las variables de respuesta los valores de los parámetros de la ecuación exponencial arriba expuesta (Cuadro 1).

Cuadro 1. Diseño de cuadrado latino 3 x 3 repetido en tiempo, empleado en la presente investigación.

Repetición 1			Repetición 2				
Periodo	Secuencia			Periodo	Secuencia		
	1 (C 1)	2 (C 2)	3 (C 3)		4 (C 1)	5 (C 2)	6 (C3)
1	CNC	BCH	HDG	4	BCH	HDG	CNC
2	HDG	CNC	BCH	5	CNC	BCH	HDG
3	BCH	HDG	CNC	6	HDG	CNC	BCH

C1, C2, C3, son los corderos fistulados. CNC, concentrado; BCH, bagazo de cítricos húmedo; HDG, heno de gramínea.

El análisis de varianza se realizó con PROC MIXED del SAS v. 9.0 (SAS, 2013), empleando el siguiente modelo: PROC MIXED; CLASS REP SEQ PER TRT; MODEL a = REP PER(REP) TRT; RANDOM SEQ(REP); LSMEANS TRT/PDIFF; RUN. En el cual REP es el cuadrado latino repetido en el tiempo, SEQ es la secuencia de tratamientos aplicada a cada borrego, PER es el periodo de 14 días, TRT son los tratamientos y SEQ (REP) es la secuencia dentro de la repetición considerado como término aleatorio; LSMEANS son las medias de cuadrados mínimos y la opción PDIFF realiza las comparaciones individuales entre tratamientos con la prueba de 't' de Student.

En el caso de los componentes químicos FDN (fibra detergente neutro), FDA (fibra detergente ácido), LIG (lignina) y PC (proteína cruda), además de la S_{KOH} el diseño fue completamente al azar con dos repeticiones por muestra, y de esta sólo se obtuvieron los estadísticos básicos media y desviación estándar para cada una de las 18 celdas de los dos cuadrados latinos 3 x 3.

La DE_{48} y la S_{KOH} se relacionaron entre sí mediante regresión lineal simple, empleando el modelo $DE_{48} = a + b(S_{KOH})$, donde 'a' es la ordenada al origen, o valor de DE_{48} cuando S_{KOH} es cero, 'b' es la pendiente o unidades de aumento en DE_{48} por unidad de aumento en S_{KOH} . Como criterio de poder predictivo se usó el coeficiente de determinación del modelo, o R^2 , el cual es perfecto cuando es la unidad, y nulo cuando es cero. Este análisis se realizó con PadPrism v. 7.05 (Motulsky, 2018).

RESULTADOS

El Cuadro 2 muestra que el pasto presentó los porcentajes más altos de FDN, en promedio, 2.75 veces mayor que el concentrado y el bagazo de cítricos. Con respecto a la FDA, el orden de concentración fue: Heno de gramíneas > bagazo de cítricos > concentrado. La LIG fue similar para heno de gramíneas y bagazo de cítricos, que superaron ($P < 0.05$) al concentrado. La PC tuvo el siguiente comportamiento:

concentrado > bagazo de cítricos = heno.

Cuadro 2. Medias y errores estándar de los contenidos de fibra en detergente neutro (FDN, %), fibra en detergente ácido (FDA, %) y lignina (LIG, %), así como proteína cruda (PC, %) de los tres alimentos estudiados.

Alimento	FDN	FDA	LIG	PC
Concentrado	21.8 ± 0.6 b	7.8 ± 0.1 c	2.2 ± 0.1 b	15.1 ± 0.04 a
Bagazo de cítricos húmedo	24.5 ± 0.3 b	20.7 ± 0.3 b	3.6 ± 0.2 a	5.4 ± 0.03 b
Heno de gramíneas	63.8 ± 0.8 a	31.7 ± 0.3 a	3.1 ± 0.1 a	5.6 ± 0.13 b

Medias seguidas de la misma literal son estadísticamente iguales a $P > 0.05$.

El Cuadro 3 muestra la prueba de efectos fijos tipo 3 para cada parámetro del modelo exponencial de Mehrez y Orskov (1977). Como puede observarse, ni el efecto de la repetición, así como tampoco el del periodo dentro de la repetición fueron significativos ($P > 0.05$) sobre los parámetros de la curva de D_{IS} . Por el contrario, el efecto del tratamiento fue significativo ($P \leq 0.05$) o altamente significativo ($P \leq 0.01$) sobre los parámetros 'a', 'b' y 'c', pero no fue significativo ($P > 0.05$) sobre la R^2 .

Cuadro 3. Prueba de efectos fijos tipo 3, por cada parámetro del modelo exponencial de Mehrez y Ørskov (1977).

Efecto	Grados de libertad		Parámetros de la ecuación de D_{IS}			
	Numerador	Denominador	'a'	'b'	'c'	'R ² '
			----- P > F -----			
			--			
	1	4	0.8002	0.0438	0.5323	0.1467
	4	6	0.9674	0.5669	0.6451	0.7329
	2	6	0.0160	0.0525	0.0018	0.2048

El Cuadro 4 muestra la comparación de medias de tratamientos de los cuatro parámetros de la curva de D_{IS} . Para el parámetro 'a', el concentrado y el bagazo de cítricos húmedo fueron similares entre sí ($P > 0.05$), pero ambos fueron significativamente superiores ($P \leq 0.05$) al heno de gramíneas. Con respecto al parámetro 'b', el bagazo de cítricos húmedo fue superior ($P \leq 0.05$) al concentrado y al heno, que fueron similares ($P > 0.05$) entre sí. En cuanto a la tasa fraccional de degradación de 'b', o parámetro 'c', el valor para el concentrado fue significativamente ($P \leq 0.05$) superior por 7.6 veces al bagazo de cítricos húmedo y 5.0 veces al pasto, sin que estos últimos difirieran entre sí ($P > 0.05$).

Cuadro 4. Comparación de medias de cuadrados mínimos de tratamientos, mediante la prueba de 't', para cada parámetro de la ecuación de D_{IS} .

"a" representa el intercepto de la curva, material que se disuelve inmediatamente

"b" porción insoluble pero potencialmente degradable de la fracción

"c" velocidad de degradación del material insoluble

Tratamiento	Parámetros de la ecuación de digestibilidad <i>in situ</i> (D_{IS})			
	'a' (%)	'b' (%)	'c' (%/h)	'R ² '
Concentrado	39.35 a	47.91 b	0.1226 a	0.9181 a
Bagazo de cítricos húmedo	39.79 a	70.33 a	0.0162 b	0.9720 a
Heno de gramíneas	22.73 b	59.85 b	0.0244 b	0.9684 a
Error estándar de la media	3.83	5.24	0.0127	0.0208

Medias seguidas de la misma literal son estadísticamente iguales a $P > 0.05$.

La Figura 1 presenta las curvas de digestión ruminal para cada alimento, calculadas con las medias de parámetros presentadas en el Cuadro 2. Sólo el concentrado presentó la respuesta típica, alcanzando rápidamente la asíntota. La digestibilidad potencial ($a + b$) del bagazo de cítricos húmedo fue mayor a 100 %, lo cual es biológicamente imposible.

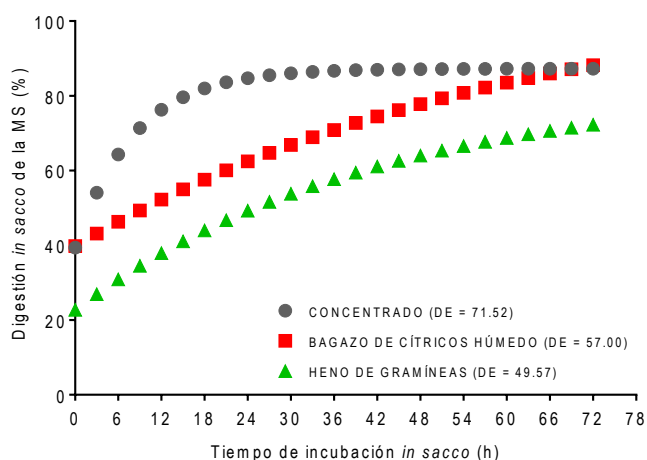


Figura 1. Curvas de digestión *in situ* de tres alimentos empleados en la alimentación de ovinos en el trópico húmedo del estado de Veracruz, México, elaboradas con las medias de cuadrados mínimos de los parámetros de la curva de D_{IS} , presentados en el Cuadro 2. En paréntesis la digestibilidad efectiva).

El Cuadro 5 muestra los parámetros del modelo de regresión lineal simple al aplicarlo individualmente a los seis pares de datos DE_{48} - S_{KOH} de cada alimento. Como se observa, las R^2 , fueron casi nulas en el caso del concentrado y el bagazo de cítricos, y baja en el heno de gramíneas y en ningún caso, el modelo se ajustó significativamente a los datos.

Cuadro 5. Parámetros del modelo de regresión lineal simple, aplicado individualmente a los seis pares de datos DE_{48} - S_{KOH} de cada alimento, ofrecido a corderos pelibuey en el trópico húmedo del estado de Veracruz, México.

Alimento	Parámetros ¹			Significancia del modelo (P>F)
	A	b	R ²	
Concentrado	-91.05	2.06	0.0109	0.8439
Bagazo de cítricos húmedo	71.24	-0.50	0.0565	0.6500
Heno de gramíneas	-118.76	2.62	0.3120	0.2493

¹ 'a' es ordenada al origen; 'b' es pendiente; 'R²' es el coeficiente de determinación.

La Figura 2 presenta la relación lineal que existió entre la DE_{48} y la S_{KOH} , en la cual, la pendiente fue diferente de cero a nivel altamente significativo ($P < 0.0001$), con un coeficiente de determinación de 0.66, que indicó que el 66 % de la variación en DE_{48} pudo ser explicada por la S_{KOH} . La desviación de la linealidad no fue significativa ($P > 0.05$), por lo que el modelo de regresión lineal simple se considera el adecuado para este registro de valores.

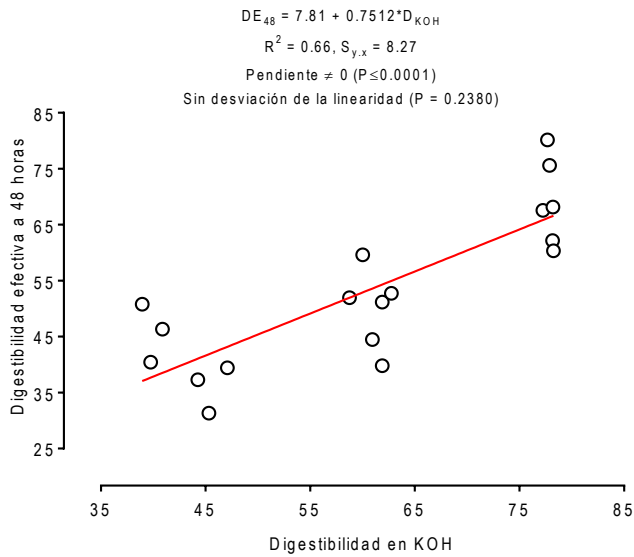


Figura 2. Relación entre digestibilidad efectiva a 48 h de incubación ruminal (DE_{48} , %) y digestibilidad por solubilidad en KOH, (S_{KOH}) en tres alimentos ofrecidos a ovinos en el trópico húmedo del estado de Veracruz, México.

DISCUSIÓN.

La determinación de la ingesta y la digestibilidad de los alimentos *in vivo* resulta lenta, laboriosa, costosa, requiere grandes cantidades de alimento y no es adecuada para la evaluación de alimentos a gran escala. Por lo tanto, se han realizado muchos intentos para predecir la ingesta y la digestibilidad utilizando técnicas de laboratorio. Se ha realizado mucha investigación para desarrollar ecuaciones de regresión para predecir la digestibilidad *in vivo* a partir de la composición química del forraje, pero aún no se ha derivado una ecuación de regresión que prediga satisfactoriamente en una amplia gama de forrajes (Makkar, 2004).

Aerts *et al.* (1977) probaron siete métodos de laboratorio para predecir la digestibilidad de la materia orgánica y los compararon usando 42 muestras de heno de gramíneas, 59 de ensilajes y 39 de pellets de forrajes y subproductos. En

todas las muestras se determinó la digestibilidad *in vivo* con corderos castrados alimentados a nivel de mantenimiento. Los métodos fueron: coeficientes de digestibilidad en tablas de requerimientos, componentes de Weende, componentes de la pared celular, ecuaciones sumativas de Van Soest, digestibilidad verdadera *in vitro* de Van Soest, digestibilidad *in vitro* de Tilley y Terry y la digestibilidad *in situ*. Ninguno de los procedimientos puramente químicos fue lo suficientemente exacto para una predicción práctica de la digestibilidad de la materia orgánica. Se obtuvieron resultados considerablemente mejores con los métodos que usan microorganismos ruminales. Los mejores resultados se obtuvieron con la digestibilidad *in situ*, pero la digestibilidad *in vitro* de dos etapas de Tilley y Terry también predijo con exactitud la digestibilidad *in vivo*.

Gosselink *et al.* (2004) compararon métodos *in situ* e *in vitro* ya conocidos, en cuanto a su confiabilidad para determinar la materia orgánica fermentable *in vivo* (MOFIV) de los forrajes consumidos por rumiantes, empleando doce tipos de forrajes: alfalfa fresca y conservada, trébol rojo, pasto ovido, y ballico perenne. La MOFIV se determinó con seis ovejas canuladas usando los marcadores de flujo $^{51}\text{Cr-EDTA}$ y $^{103}\text{Ru-Fenantrolina}$. También, la MOFIV se estimó directamente de los resultados de tres métodos *in vitro*, e indirectamente mediante su cálculo con ecuaciones de los sistemas de evaluación de proteína holandeses y franceses. Los métodos *in vitro* fueron la técnica enzimática que usa pepsina y celulasa, el método de Tilley y Terry y la técnica de producción de gas. La MOFIV se correlacionó mejor ($R^2 = 0.74$; $n = 12$) con la producción de gas a las 20 horas de incubación. La correlación mejoró al considerar separadamente forrajes frescos y conservados ($R^2 = 0.90$; $n = 12$). La MOFIV calculada indirectamente se estimó bien a partir de los resultados de los métodos *in situ*, la producción de gas y Tilley y Terry ($R^2 = 0.76-0.80$; $n = 12$). La precisión de la estimación utilizando los estimadores directos e indirectos de la MOFIV fue similar. Sin embargo, el estimador directo de la MOFIV fue una regresión, en tanto que el estimador indirecto fue una validación. Estos investigadores concluyeron que la MOFIV se estimaba mejor indirectamente con la ecuación del sistema holandés de

evaluación de proteína, en tanto que el estimador era más confiable con las técnicas *in situ* y de producción de gas que con el método *in vitro* utilizado.

No obstante lo anterior, Kesting (1978) demostró que la digestibilidad de la materia seca de un amplio número de dietas estaba relacionada a su solubilidad en hidróxido de potasio al 5 % ($r = 0.94$), y sugirió que este método era más conveniente que las técnicas de fermentación como la de Tilley y Terry (1963) o la de Mehrez y Orskov (1977), debido a la rapidez con que se realiza y a la posibilidad de tener gran número de muestras por corrida.

Se conoce desde hace tiempo que el tratamiento con soluciones alcalinas mejora la digestibilidad de pajas y rastrojos. Por ejemplo, Anderson *et al.* (1973) colocaron muestras de paja de ballico en hidróxido de sodio (NaOH) y otras en hidróxido de potasio (KOH); en ambos casos, la paja que se remojó en soluciones al 2, 4, 6 y 8% mejoró significativamente la digestibilidad de la materia seca, sin que se notasen mejoras con concentraciones superiores al 8 %. Lo anterior debió indicar a los nutriólogos que tales soluciones podrían ser utilizadas en pruebas rápidas de laboratorio para valorar simultáneamente un gran número de forrajes y alimentos. De hecho, el uso de la solución débil de NaOH en la fase alcalina de la determinación de la fibra cruda del sistema de Weende es un claro ejemplo de lo anterior.

El método de la bolsa filtrante desarrollado por Ankom® (Komarek *et al.*, 1994 a; Komarek *et al.*, 1994 b) es una buena alternativa a los métodos clásicos de determinación de la fibra cruda de Weende, así como de componentes de pared celular. D'heer *et al.* (2000) compararon la técnica convencional (TC) que usa crisoles filtrantes con la técnica de bolsas filtrantes de Ankom® (TBF) para la determinación de fibra cruda (FC), fibra por detergente neutro (FDN) y ácido (FDA), así como lignina ácido detergente (LAD). El contenido medio de FC de 56 forrajes fue ligera, pero significativamente ($P < 0.0001$) mayor con la TBF que con la TC (144 vs 138 g·kg⁻¹ DM). Las dos técnicas estuvieron altamente

correlacionadas (0.996) y la TBF presentó mejor repetibilidad. Para la FDN realizaron un estudio comparativo con 10 alimentos con bajos niveles de almidón, 14 con niveles altos de almidón y 28 residuos de incubaciones *in situ*.

Fue necesario agregar una solución de alfa amilasa esparcida uniformemente durante la digestión y dos primeros enjuagues a los alimentos ricos en almidón, con el fin de obtener valores similares de la FDN con la TC y la TBF. La FDA de 11 alimentos presentó una correlación excelente entre ambas técnicas (0.997) y la repetibilidad fue claramente mejor con la TBF. En cuanto a la LAD de 12 alimentos, después del análisis secuencial FDN-FDA, la TBF mostró una alta precisión y no fue significativamente ($P > 0.05$) distinta de la TC. Los anteriores fueron los motivos por los cuales en la presente investigación se decidió aplicar la bolsa filtrante para determinar la solubilidad en KOH.

En el presente experimento la correlación entre la DE_{48} y S_{KOH} fue de $r = 0.81$ o un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.66$, lo que indicó que la variación de DE_{48} dependió en 66 % del valor de S_{KOH} . La pendiente fue de 0.7512, es decir que por cada unidad de aumento en S_{KOH} , la DE_{48} se incrementó en tres cuartas partes de unidad porcentual, siendo este valor diferente de cero a nivel altamente significativo ($P < 0.0001$).

Como ya se mencionó, Kesting (1978) obtuvo una correlación de 0.94, equivalente a un coeficiente de determinación de 0.88, es decir, que el valor de la digestibilidad *in vivo*, fue explicado en un 88 % por las variaciones de S_{KOH} . Por su parte, Vencl y Flám (1981) encontraron que la predicción de la digestibilidad *in vivo* a partir de la S_{KOH} , fue más precisa para ensilajes y forrajes peletizados, con coeficientes de determinación de 0.76 y 0.86, respectivamente, que para henos y henilajes con coeficientes de digestibilidad respectivos de 0.35 y 0.38. Antoniewicz *et al.* (1997) encontraron coeficientes de determinación de 0.61, 0.53 y 0.30 para 70 gramíneas secas, 33 gramíneas ensiladas y 7 gramíneas compuestas, respectivamente; en tanto que, para los 110 forrajes en conjunto, el coeficiente de

determinación fue de 0.75. El presente estudio, arrojó tendencias similares, aunque de magnitud diferente. En conjunto, los tres alimentos presentaron un coeficiente de determinación de 0.66, pero individualmente los valores cayeron considerablemente a 0.01 para el concentrado, 0.06 para el bagazo de cítricos húmedo, y 0.31 para el heno de gramíneas. (Cuadro 5).

En el caso del estudio de Vencl y Flám (1981), las pendientes fueron de 0.30, 0.38, 0.50 y 0.62 unidades porcentuales de aumento en la digestibilidad *in vivo*, por unidad porcentual de aumento en S_{KOH} , para henos, henilajes, ensilajes y forrajes peletizados, respectivamente. Por otro lado, Antoniewicz *et al.* (1997) encontraron pendientes de 0.90, 0.83 y 0.60 para gramíneas secas, ensilajes de gramíneas y gramíneas compuestas respectivamente. Asimismo, cuando se incluyeron todas las muestras en la regresión, la pendiente mejoró a 0.93. El presente experimento presentó un comportamiento similar, con pendientes individuales bajas y no significativas ($P > 0.05$) de 2.06, -0.50, y 2.62 unidades porcentuales de aumento en la digestibilidad *in vivo*, por unidad porcentual de aumento en S_{KOH} , para el concentrado, el bagazo de cítricos húmedo y el heno de gramíneas, en tanto que, para las 18 muestras conjuntas, la pendiente fue de 0.75. (Cuadro 5; Figura 2).

Estos casos de pendientes y coeficientes de determinación distintos para diferentes clases de forrajes y alimentos es un signo de alerta que indica que cada alimento o grupo de alimentos reacciona de manera distinta al efecto solubilizante del KOH sobre la materia seca de la planta y por lo tanto, se debe diseñar una modificación ad hoc de la técnica para que esta funcione correctamente. Además, este hecho impide que las ecuaciones generadas por cualquier estudio sean aplicadas de manera general.

Tal como está diseñado, la S_{KOH} , es un procedimiento barato, con posibilidades de aplicarse a gran escala, lo cual beneficiaría a laboratorios de países en vías de

desarrollo con presupuestos limitados. En Cuba, ejemplo de país con medios financieros limitados, pero alto éxito en ciencias pecuarias, el método de la solubilidad con KOH, se ha venido aplicando en la valoración nutricional de varios forrajes, como híbridos de *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum glaucum* (Martínez y González, 2017) así como morera (*Morus alba*) (García *et al.*, 2004), cocuite (*Gliricidia sepium*) (Pedraza, 1994) y suplementos baratos como la saccharina (Elías *et al.*, 2001). Este método, combinado con métodos de digestión conjunta, como lo es la técnica de bolsas filtrantes de Ankom®, hace aún más atractivo su uso generalizado en el futuro.

CONCLUSIONES.

El presente estudio indicó claramente que el poder predictivo del método de solubilidad en KOH (S_{KOH}) fue de bajo a moderado sobre los tres alimentos utilizados. Asimismo, los resultados indicaron que su poder de predicción varía según el tipo de alimento, por lo que la aplicación de una sola ecuación de predicción para todas las especies forrajeras, suplementos comerciales y subproductos, sería inapropiada. Los métodos sencillos *in vitro* como la solubilidad en hidróxido de potasio podrían ser estimadores confiables de la digestibilidad, si se hacen las modificaciones necesarias para que funcionen correctamente dentro de cada tipo de alimento. Su bajo costo hace atractiva su utilización a gran escala. Además de ser buena alternativa para no continuar con la experimentación en animales.

REFERENCIAS

1. Antoniewicz A, De Boever J, Brzóška F , Ostrowski R , Marek B. Evaluation of reliability of solubility in potassium hydroxide solution as an *in vitro* method for predicting organic matter digestibility of ruminant feeds. *J. Anim. Feed Sci.* 1996;5(1):83–92.
2. Araba M, Dale NM. Evaluation of Protein Solubility as an Indicator of Overprocessing Soybean. *Meal Poultry Science*, 1990; 69:76-83.
3. Araiza RE, Delgado LE, Carrete CF, Medrano RH, Solís SA, Murillo OM, Haubi SC. Degradabilidad ruminal *in situ* y digestibilidad *in vitro* de diferentes formulaciones de ensilados de maíz-manzana adicionados con melaza. *Avances de Investigación Agropecuaria*, 2013; 17(2): 79-96.
4. Boisen S, Eggumbo. Critical evaluation of *in vitro* methods for estimating digestibility in simple-stomach animals. *Nutrition Research Reviews*, 1991; 4(1):141-62. doi: 10.1079/NRR19910012.
5. Cardona EM, Ríos LA, Peña JD. Disponibilidad de variedades de pastos y forrajes como potenciales materiales lignocelulósicos para la producción de bioetanol en Colombia. *Información Tecnológica* 2012; 23(6): 87-96.
6. Correa CHJ. Estimación de la degradabilidad efectiva en el rumen mediante métodos numéricos. Medellín. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*. 2008;61(2): 4654-4657.
7. Craig D, Ralston A. Chemical treatment of ryegrass straw: *in vitro* dry matter digestibility and compositional changes. *Journal of Animal Science* 1973; 37(1):148–152. doi.org/10.2527/jas1973.371148x.
8. Enríquez QJF, Hernández GA, Quero CAR, Martínez MD. Producción y manejo de gramíneas tropicales para pastoreo en zonas inundables. 1ª ed, SAGARPA-INIFAP-COLEGIO DE POSTGRADUADOS.
9. FAO. Tropical animal feeding. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome; FAO, 1995.
10. FAO. Suplementación: complementos Alimenticios para Rumiantes. Rome; Animal Production and Health Division, FAO, 1999.

11. Giraldo LA, Gutiérrez LA, Rúa C. Comparación de dos técnicas *in vitro* e *in situ* para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia, 2007.
12. González GH, Lozano GG, Hernández ZH, Orozco EA, Holguín LC. Degradabilidad ruminal de subproductos alimenticios en borregos: Efecto de la correlación forraje-concentrado en la dieta. Ciudad Juárez, México; Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. 2015.
13. Gosselink JMJ, Dulphy JP, Poncet C, Tamminga S, Cone JW. A comparison of *in situ* and *in vitro* methods to estimate *in vivo* fermentable organic matter of forages in ruminants. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences* 2004; 52(1) 29-45. [doi.org/10.1016/S1573-5214\(04\)80028-9](https://doi.org/10.1016/S1573-5214(04)80028-9).
14. Gutiérrez BO. La fisiología digestiva del rumiante, objeto de investigación en el Instituto de Ciencia Animal durante cincuenta años. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 2015; 49(2):179-188.
15. Jarillo RJ, Castillo GE, Flores GAF, Valles-de la Mora B, Ramírez L, Avilés L, Escobar HR, Ocaña ZE. Producción de forraje, calidad y eficiencia de utilización de pastos nativos bajo diferente carga animal y época del año en el trópico húmedo mexicano. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 2011; 13: 417 – 427.
16. Jarrón Arredondo M, Granados Zurita L, Quiroz Valiente N. Forrajes: alimento para los rumiantes. Huimanguillo, Tabasco; INIFAP, 2013.
17. Herrera JCO, Gutierrez GCD. Análisis de la normalidad de los parámetros de curvas de degradabilidad ruminal *in situ*. *Revista Hombre, Ciencia y Tecnología* 2016; 20(2):107-115. ISSN: 1028-0871.
18. Ludwin J, Kowalski ZM, Weisbjerg MR. The use of the *in vitro* filter bag method for predicting digestibility of forages. *Journal of Animal and Feed Sciences* 2005; 14(1): 571–574.
19. Makkar HPS. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. Vienna, Austria; FAO, 2003.

20. Mijares LH, Hernández MO, Mendoza MG, Vargas VL, Aranda IE. Cambio de peso de toretes en pastoreo en el trópico: respuesta a suplementación con bloque multinutricional. *Universidad y ciencia* 2012; 28(1):39-49.
21. Molano Gutiérrez ML. Caracterización nutricional de forrajes tropicales usando espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) (Tesis de maestría). Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2012.
22. Pérez B. Soya perenne (*Neonotonia wightii*) y bagazo de cítrico fresco (pomelo – *Citrus paradisi*) como complemento alimenticio para ovinos de pelo en crecimiento. (tesis de licenciatura). Cuautitlán (México): Universidad Nacional Autónoma de México, 2014.
23. Ravindran V, Hendriks WH, Camden BJ, Thomas DV, Morel PCH, Butts CA. Amino acid digestibility of meat and bone meals for broiler chickens. *Aust. J. Agric. Res.* 2002; 53: 1257–1264.
24. Rodríguez A, León F, Agrie J. Consumo y digestibilidad de gramíneas tropicales conservadas y el efecto de la suplementación con residuos fermentados de pescadería. *J. Agric. Univ. P.R.* 2006; 90(I-2):57-73.
25. Rodríguez RMR, Gonzalez SA, Yáñez MA, Silva LM, Gómez ECL. Composición química de recursos forrajeros para la alimentación de ovinos en Colima. Tecomán, Colima; Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 2013.
26. Sandoval Castro S, Belmar Casso R. Principios para la alimentación de rumiantes. Mérida, Yucatán; Universidad Autónoma de Yucatán, 2003.
27. Torres GG, Arbaiza FT, Carcelén CF, Lucas AO. Comparación de las técnicas *in situ*, *in vitro* y enzimática (celulosa) para estimar la degradabilidad de forrajes en ovinos. *Revista de investigaciones veterinarias del Perú* 2009; 20(1):5-9.
28. Vázquez C. Comportamiento productivo, consumo y digestibilidad de una dieta base *Brachiaria sp.* complementada con *Cratylia argenta* en corderos pelibuey en crecimiento. (Tesis de maestría). CDMX, México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2017.

29. Vencel B, Flám F. Predicting the energetic value of forage from digestibility of organic matter *in vitro* or solubility in potassium hydroxide: Animal feed science and technology 1981; 6:235-243.