ARTÍCULO CIENTÍFICO

Degradabilidad ruminal de fracciones de carbohidratos en forrajes tropicales determinada por métodos in vitro e in situ

Luis Carlos Arreaza[1], Dora Elisa Sánchez[2] y Beatriz Abadía[3]

ABSTRACT

Title: **Ruminal degradability of carbohydrate fractions from tropical forages using *in vitro* and *in situ* methods**

The digestibility of four tropical grasses: *Dichantium aristatum* (Angleton), *Brachiaria decumbens* (Braquiara), *Bothriochloa pertusa* (Colosuana o Kikuyina) and *Pennisetum clandestinum* (Kikuyo) and a legume: alfalfa (*Medicago sativa*), were evaluated by two common digestibility methods: *in vitro* gas production and the nylon bag technique. Carbohydrate fractions from all grasses were prepared for incubation using *in vitro* and *in situ* methods. Colosuana, Angleton, Brachiaria, and Kikuyo grasses were cut after 35, 35, 30 and 56 days' growth, respectively. Alfalfa was cut in mid-bloom. *In vitro* degradability was measured by weighing 100 mg final degraded material (DM) residue incubated for 48 hr, washing this residue with neutral detergent solution and drying at 105 °C. *In situ* degradability was determined by the nylon bag technique; after incubating a 3 g sample for 48 hr for each fraction from each forage in polyester bags, the residue was washed with neutral detergent solution and dried at 105 °C, before weighing. SAS's® general linear model (GLM) was used for comparing mean DM percentage in both techniques. *In vitro* degradability for all the fractions from the four grasses was higher than *in situ* degradability ($P < 0.001$); there was high and significant correlation between the two techniques (0.87, $P<0.001$). Final *in vitro* degradability was 70.5%, 46.3%, 78.8%, 52.1% and 80.8% whole material (WM) for Alfalfa, Angleton, Brachiaria, Colosuana and Kikuyu, respectively. *In situ* degradability was 71.7%, 26.6%, 63.9%, 33.4% and 71.5% for WM from alfalfa, Angleton, Brachiaria, Colosuana and Kikuyu, respectively; this was statistically different to that of *in vitro* degradability ($P < 0.05$). Correlation between methods for WM in all forages was 0.93. *In vitro* degradability for ethanol insoluble residues (EIR) was 57.9%, 75.2%, 49.1% and 76.4% for the five forages respectively and *in situ* degradability was 53.2%, 22.7%, 47.2%, 27.6% and 61.7% for Alfalfa, Angleton, Braquiara, Colosuana and kikuyu, respectively. *In vitro* FDN (cellular wall) degradability was 45.7%, 47.2%, 70.1%, 53.2% and 75.0% for the five forages respectively and *in situ* degradability was 48.0%, 25.8%, 42.2%, 36.3% and 52.8% for all five fractions from the corresponding forages. Correlation coefficients were 0.86 for EIR ($P < 0.001$) and 0.75 for FDN ($P < 0.005$). The differences between the two methods could have been due to several variables such as residue washing procedure or inadequate substrate exposure to the rumen environment. Substrate reduction from the bags would be higher due to the escape of small particles through the pores of the bag and rumen passage rate, conditions which are not present in the *in vitro* method.

Key words: Tropical grasses, digestibility, degradability.

Recibido: diciembre 27 de 2004.
Aceptado: mayo 2 de 2005.

1. Investigador, Programa Fisiología y Nutrición Animal , C.I. Tibaitatá, Corpoica.
e-mail: larreaza@corpoica.org.co
2. Investigadora, Programa de Fisiología y Nutrición Animal, C.I. Tibaitatá, Corpoica.
3. Investigadora, Directora Laboratorio Nutrición Animal, Programa de Fisiología y Nutrición Animal, C.I. Tibaitatá, Corpoica.

RESUMEN

Cuatro gramíneas tropicales y una leguminosa se evaluaron para conocer la degradabilidad ruminal del material entero o completo (ME), el residuo insoluble en etanol (RIE) y la pared celular (FDN), mediante las técnicas de producción de gas (*in vitro*) y degradabilidad en bolsa de nylon (*in situ*). Se escogieron las gramíneas *Dichantium aristatum* (Angleton), *Brachiaria decumbens* (Braquiara), *Bothriochloa pertusa* (Colosuana o Kikuyina) y *Pennisetum clandestinum* (Kikuyo), además de la leguminosa *Medicago sativa* (alfalfa). Las cuatro gramíneas se cosecharon en la edad adecuada para pastoreo (Kikuyo con 56 días de descanso, 30 días para Braquiara, 35 días para Angleton y 35 para Colosuana). La alfalfa se cosechó en floración (60 días de rebrote). La degradabilidad *in vitro* se determinó mediante la cuantificación de residuo seco a 105 °C, después de 48 horas de incubación de una muestra de 100 mg de cada fracción de forraje y lavado con detergente neutro. La degradabilidad *in situ* se determinó de acuerdo a las técnica de la bolsa de nylon, en bolsas de poliéster utilizando las mismas fracciones de forraje, con 3,0 g de muestra por bolsa e incubación por 48 horas en el rumen de una vaca Holstein no lactante ni gestante, alimentada con Kikuyo bajo pastoreo libre y permanente. Los porcentajes de materia seca (MS) degradada en las dos técnicas se compararon mediante un análisis de varianza con el procedimiento *General Linear Models* (GLM) de SAS® para cada fracción. La degradabilidad ruminal en los cuatro forrajes, mediante la técnica *in vitro* fue superior a la degradabilidad en bolsa ($P < 0,01$) para todas las fracciones, siendo la correlación entre las dos técnicas alta (0,87, $P < 0,001$). La degradación total *in vitro* para los sustratos fue 72,4, 46,3, 78,9, 52,1 y 80,8%, para el ME de alfalfa, Angleton, Brachiaria, Colosuana y Kikuyo, respectivamente. Para el ME en todos los pastos la correlación entre los dos métodos fue de 0,93 ($P < 0,01$). La degradación *in situ* del ME fue de 71,7, 26,6, 63,9, 33,4 y 71,4% para Alfalfa, Angleton, Brachiaria, Colosuana y Kikuyo, respectivamente y fue diferente a la degradación *in vitro* ($P < 0,01$). La degradación *in vitro* del RIE fue de 53,2, 43,2, 75,2, 49,1 y 76,4% para los cinco forrajes respectivamente y 53,2, 22,7, 47,2, 27,6, y 61,7% para la degradación *in situ* del RIE en los cinco forrajes respectivamente, siendo diferentes los dos métodos ($P < 0,01$). La degradación *in vitro* de FDN fue 45.7, 47,2, 70,1, 53,2 y 75,0% para cada pasto respectivamente y de: 38,0, 25,8, 42,2, 36,3 y 52,8% para la degradación *in situ* del FDN en los cinco pastos, respectivamente y los valores fueron diferentes a con respecto al método *in vitro* ($P<0,05$). La correlación entre los dos métodos fue: 0,86 para el RIE y 0,74 para FDN en todos los forrajes ($P < 0,001$ y $P < 0,005$). Las diferencias entre la degradabilidad *in vitro* e *in situ* se pueden atribuir a los procedimientos de lavado de los residuos, a exposición inadecuada de las bolsas a la acción de los microorganismos por compactación del sustrato en la bolsa o a una reducción en la actividad fibrolítica de las bacterias del rumen en las bolsas. Se esperaría que la desaparición del sustrato fuera más alta por el escape de partículas pequeñas a través de los poros de la bolsa y al efecto de la tasa de pasaje dentro del rumen, condiciones que no ocurren en la degradación *in vitro.*

Palabras clave adicionales: pastos tropicales, digestibilidad, degradabilidad.

INTRODUCCIÓN

Las paredes celulares de los forrajes, sirven como fuente primaria de energía para los rumiantes. La pared celular está compuesta principalmente por polisacáridos, proteínas y lignina (Jung *et al*., 1988). El metabolismo de energía en rumiantes se basa en su habilidad para digerir los carbohidratos estructurales de las plantas como la celulosa; ésta digestión se lleva a cabo bajo condiciones anaeróbicas por un

complejo de bacterias, hongos y protozoos (Scholfield, 2000). El metabolismo de los carbohidratos por los microorganismos del rumen determina la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) que, a su vez, proporcionan entre 70 y 80% de las necesidades calóricas totales del animal hospedero (Church, 1993).

Tanto la estructura como la cantidad y tipo de carbohidratos almacenados en el forraje, determinan su digestibilidad o disponibilidad para las bacterias ruminales (Hall *et al*., 1998) La tasa de fermentación o degradabilidad, más la degradabilidad absoluta de esos carbohidratos, hacen que el proceso sea eficiente o no, en la síntesis de microorganismos. Se sabe que la eficiencia del rumiante depende de dos aspectos críticos en el proceso de fermentación: la velocidad de fermentación o tasa de degradación y la velocidad de paso o tasa de pasaje (Fox *et al*., 2000; Van Soest, 1994). La combinación de estas dos cinéticas establece la cantidad neta de microorganismos que serán sintetizados en el rumen y luego digeridos en el intestino delgado. Considerando lo anterior, el estudio de la degradación ruminal de los forrajes y demás ingredientes de la dieta de los bovinos ha sido desde los inicios de la zootecnia uno de los temas más estudiados, evaluados y controvertidos en el mundo.

Como la determinación de la digestibilidad del alimento de los rumiantes *in vivo*, es un proceso lento y de alto consumo de tiempo y recursos (grandes cantidades de alimento y dinero), se desarrollaron diferentes metodologías de evaluación *in vitro* de la digestibilidad como la técnica más utilizada de Tilley y Terry (1963), la técnica *in situ* de Ørskov y McDonald (1979), la de Ørskov *et al.* (1980), y más recientemente las técnicas de digestibilidad *in vitro* por producción de gas (Menke y Steingass, 1989; Pell y Schofield, 1993; Theodorou *et al*., 1994; Cone *et al*., 1996).

El objetivo del trabajo fue comparar dos técnicas (*in situ* e *in vitro*) para estimar la degradación total a 48 horas de las fracciones de carbohidratos en cuatro pastos tropicales y una leguminosa templada tomada como patrón.

Materiales y métodos

Se seleccionaron para el ensayo cuatro gramíneas de amplia distribución en las regiones ganaderas de Colombia (Pulido *et al*., 2000) y representativas de los trópicos bajo y alto. Los materiales incluidos fueron: *Medicago sativa* (alfalfa) proveniente del Centro de Investigación Tibaitatá, cortado en época de floración; *Dichantium aristatum* (Angleton) pasto del Valle del Sinú (Centro de Investigación Turipaná) cortado en época seca a los 35 días de rebrote; *Brachiaria decumbens* pasto del Pie de Monte del Meta (Centro de Investigación La Libertad) con corte a los 30 días de rebrote; *Bothriochloa pertusa* (Colosuana) pasto del norte del Alto Magdalena (Tolima) proveniente de la finca Cambao, cosechado en época seca con 35 días de rebrote; y *Pennisetum clandestinum* (Kikuyo) pasto de clima frío proveniente del Centro de Investigación Tibaitatá, con corte a 56 días de rebrote.

Análisis implementados. Cada uno de los materiales fue analizado para indagar Materia Seca (MS), Proteína cruda (PC), Extracto etéreo (EE) (AOAC, 2003), Fibra en detergente neutro (FDN) (Van Soest *et al*., 1991), Cenizas (CEN) (AOAC, 2003), Carbohidratos no estructurales totales (CNET; Hall, 1998), Nitrógeno no proteico (NNP); Proteína soluble total (PSol); Proteína insoluble en detergente neutro (PIDN); Proteína insoluble en detergente ácido (PIDA; Licitra *et al*., 1996) y lignina (Van Soest, 1991) (Tabla 1).

Preparación de las muestras. Se secaron las muestras de cada forraje en horno a 65 °C durante 48 horas, para luego ser molidas en molino Willey & Son Modelo 4®, con criba de 2 mm. Sub-muestras de 10 g de cada pasto fueron tratadas con etanol al 80% por 4 h, con agitador mecánico; para ser filtradas y lavadas con etanol absoluto y acetona; posteriormente se secaron en horno a 60 °C de acuerdo con Hall *et al*. (1997). Otros 10 g por cada forraje fueron tratados por 1 h con detergente neutro (Van Soest *et al*., 1991) para extraer el FDN, para luego ser filtrado sobre una bolsa Ankom abierta; finalmente, fueron lavados con agua caliente, etanol absoluto y acetona antes de ser secadas a 60°C, de acuerdo con Schofield y Pell (1995).

Degradación in situ. Muestras de 3 gramos (11 $mg \cdot cm^{-2}$) de cada fracción de los cuatro pastos y la leguminosa se incubaron por duplicado en bolsas de poliéster Ankom® de 20 x 10 cm y poro de 53 micras (Bar Diamond Inc, Parma ID, USA) durante 48 horas, utilizando una vaca Holstein seca y no gestante mayor de 60 meses, con cánula ruminal y alimentada con pasto Kikuyo permanente (pastoreo) y suplementada con sal mineral al 8% de fósforo. Las incubaciones se repitieron cuatro veces en diferentes días para obtener suficiente número de réplicas, debido a que no se disponía de más animales canulados. Después de 48 horas las bolsas se lavaron con agua corriente hasta la no aparición de turbidez en ésta. Posteriormente, se lavaron con solución detergente neutro, para desprender bacterias y partículas del rumen del residuo, de acuerdo con Van Soest (1994). Luego se secaron en horno a 65 °C por 48 horas. Fuera del horno se dejaron enfriar a temperatura ambiente en un desecador, para pesado en balanza analítica. El residuo de cada bolsa se traspasó a crisoles de porcelana tarados, se pesaron de nuevo y se

Tabla 1. Composición química de los cinco forrajes utilizados en el estudio. Los carbohidratos no estructurales CNE, se determinaron por diferencia: CNET = [100 – (PC+EE+Cen+FDN)].

Sustrato	MS %	PC %	EE %	Cen %	CNET %	FDN %	PIDN % PC	FDA %	PIDA % PC	Lig % FDN
Pennisetum clandestinum (Kikuyo)	91.7	20.7	2.14	13.25	11.19	52.72	32.84	22.7	3.46	4.08
Brachiaria decumbens (Braquiaria)	89.85	15.33	1.52	6.74	22.91	53.5	29.97	21.9	2.8	8.0
Bothriochloa pertusa (Colosuana)	91.62	2.77	1.02	11.5	14.54	70.17	30.49	44.64	25.33	10.46
Dichantium aristatum (Angleton)	92.05	6.55	0.94	11.78	11.66	69.07	40.65	40.09	18.29	11.07
Medicago sativa (Alfalfa)	91.6	15.01	1.68	7.99	33.31	42.01	30.04	27.60	8.43	15.12

Abreviaturas: MS = materia seca, PC. = proteína cruda, EE = extracto etéreo, Cen = cenizas, CNET = carbohidratos no estructurales totales, FDN = fibra en detergente neutro, PIDN = proteína insoluble en detergente neutro expresado como porcentaje de proteína cruda, PIDA = proteína insoluble en detergente ácido expresado como porcentaje de proteína cruda, Lig = lignina como porcentaje de FDN.

secaron en horno a 105 °C por 24 horas para determinar la humedad residual, hacer las correcciones al peso a 65 °C y comparar con la técnica *in vitro*.

Degradación in vitro. En frascos de 50 ml se incubaron 100 mg de MS por duplicado para cada una de las siguientes fracciones (secas a 65 °C): Material entero (ME), Residuo Insoluble en Etanol (RIE), y Fibra en Detergente Neutro (FDN), obtenidas de los cinco forrajes. Las incubaciones se realizaron bajo estrictas condiciones de anaerobiosis a 39 °C, colocando 7 ml de solución de bicarbonato-fosfato adicionando solución reductora (Menke y Steingass, 1988), 1 ml de agua destilada hervida y 2 ml de fluido ruminal filtrado por cuatro capas de gasa y una de lana de vidrio, de acuerdo con Pell y Schofield (1993). Al finalizar las incubaciones se midió el pH a cada frasco, el cual debe encontrarse entre 6,2 y 6,8, para considerar la incubación ajustada a las condiciones de crecimiento microbial óptimas. Si había valores por debajo de 6,2 o superiores a 6,8, la incubación se descartaba procediendo a repetirla con los mismos materiales. Los residuos sólidos se lavaron con detergente neutro, según lo descrito por Schofield y Pell, (1995), filtrándolos con vacío ligero sobre una bolsa Ankom® abierta (descosida) y lavado final con etanol y acetona. La degradación total se cuantificó por diferencia de pesos entre el material antes de incubación (peso corregido a 105 °C) y el residuo seco a 105 °C.

Diseño y análisis estadístico. Los datos de degradación final se analizaron mediante el procedimiento de Modelos Generales Lineales (GLM) de SAS® (1996), con un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones, según el modelo siguiente:

$$Y = \mu + S_i + F_j + R_k + F^*R_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde,

Y = variable dependiente, μ = media general; S = especie de pasto; F = fracción de carbohidrato; R = incubación No; F*R la interacción entre incubación y fracción de CNET y ε el error asociado y normalmente distribuido.

La correlación entre los dos métodos se realizó utilizando el procedimiento *Proc Corr* de SAS™ (1996), en forma general con todas las observaciones y para cada fracción por separado.

Resultados y discusión

En el análisis químico de los forrajes se encontró que los pastos con mayor pared celular fueron Colosuana y Angleton. También fueron los de menor contenido de Carbohidratos no estructurales totales (CNET) junto con el Kikuyo. La alfalfa fue el forraje con mayor contenido de estos carbohidratos y menor de FDN, pero mayor concentración de lignina (Tabla 1). El pasto Brachiaria obtuvo un contenido de CNET alto y de FDN medio, similar al Kikuyo.

Las diferencias entre las degradaciones *in situ* e *in vitro* ($P < 0,001$) implican que hay errores en los procedimientos, o que estos dos métodos no son comparables, a pesar de existir una alta correlación entre ambos ($r = 0,87$, $P < 0,001$). Las diferencias dentro de fracciones se acentúan sobre las menos solubles como RIE y FDN. En el ME la diferencia es de 15,6 puntos porcentuales con una desviación de 1,13. En el RIE, la diferencia aumenta a 19,7 con una desviación de 6 y en FDN la diferencia es de 22,1 puntos con una desviación de 4,5. El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre los dos métodos y entre todas las fracciones ($P < 0,01$), como se aprecia en la Tabla 2. Las incubaciones o repeticiones no fueron diferentes ($P > 0,80$). Los valores máximos y mínimos de cada una de las degradaciones muestran la magnitud de las diferencias entre los dos métodos (Tabla 3).

Tradicionalmente en los laboratorios de nutrición de rumiantes en Colombia, las bolsas de incubación se lavan en agua corriente a la temperatura ambiente o, en máquina de lavado doméstica; sin embargo, esto no es suficiente para desprender tanto partículas como bacterias del rumen pegadas al material dentro de la bolsa. En este caso, las bolsas se colocaron por una hora en detergente neutro en ebullición, como lo recomienda Van Soest *et al*. (2000) en forma similar al lavado de los residuos de las incubaciones *in vitro* (Pell y Schofield, 1993).

El alimento ingerido desaparece del tracto digestivo por dos rutas: digestión y pasaje. En consecuencia, estos dos procesos compiten por el mismo sus-

Tabla 2. Cuadrados mínimos de la media de degradación final en cada fracción para los dos métodos de digestibilidad *in vitro* e *in situ* (no se incluye alfalfa por falta de repeticiones para la degradación *in situ* del FDN).

Forrajes y sus fracciones*	in vitro		in situ		RMSE	Diferencia entre métodos %
	n	media %	n	media %		
D. aristatum FDN	4	47.2a	4	25.8b	5.829	21.4
D. aristatum ME	4	46.3a	4	26.6b	3.239	19.7
D. aristatum RIE	4	43.2a	4	22.7b	3.039	20.5
B. decumbens FDN	4	70.1a	4	42.2b	5.116	27.9
B. decumbens ME	4	78.8a	4	63.9b	5.871	14.9
B. decumbens RIE	4	75.2a	4	47.2b	6.281	28
B. pertusa FDN	4	53.2a	4	36.3b	3.027	16.9
B. pertusa ME	4	52.1a	4	33.4b	4.394	18.7
B. pertusa RIE	4	49.1a	4	27.6b	2.375	15.6
P. clandestinum FDN	4	74.9a	4	52.8b	6.020	22.1
P. clandestinum ME	4	80.8a	4	71.5b	1.988	9.3
P. clandestinum RIE	4	76.4a	4	61.7b	4.991	14.7

* ME = material entero; RIE = residuo insoluble en etanol al 80%; FDN = fibra en detergente neutro. RMSE = raíz cuadrada del error de la media. Valores entre filas con distinta letra son estadísticamente diferentes ($P < 0,05$).

Tabla 3. Estadística descriptiva en las dos técnicas de digestibilidad, evaluada por el procedimiento correlacion de SAS, para la degradación ruminal de 4 forrajes tropicales. (No se incluye la alfalfa).

Variable	n	Media general*	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
in situ	48	43.43b	13.95	24.24	71.58
in vitro	48	62.25a	12.84	42.88	84.61

* Letras diferentes en los valores de la media indican diferencia estadística ($P < 0,05$).

trato, de tal manera que existe la probabilidad de que una parte del material potencialmente digestible escape de la digestión y pase a las heces (Van Soest, 1994) En el caso de la incubación de sustratos en bolsas de dacrón en el rumen de un animal, una parte del material fino, el más soluble en el fluido, escaparà del rumen sin digerirse. Pero el material en frascos de incubación *in vitro*, no puede escapar y, en consecuencia, estará expuesto a la acción microbial durante todo el período de incubación. De lo anterior se deduce que la desaparición de sustrato de las bolsas en el rumen debería ser mayor que la desaparición de sustrato en los frascos, lo que no ocurrió en este experimento. Las diferencias a favor de la degradación *in vitro* son considerables con respecto a la degradación *in situ*. Los resultados obtenidos sugieren que hay una gran cantidad de errores en el lavado de las bolsas o que la acción de los microorganismos no alcanzó a todas las partículas de sustrato por razones de compactación en la bolsa, al impedir la entrada libre de microorganismos a ésta.

En la Figura 1 se puede ver claramente la dispersión de puntos que representan los valores de degradación para cada método. En el cuadrante superior derecho se encuentran los puntos para la degradación *in vitro* y en el cuadrante inferior izquierdo, los puntos de la degradación *in situ*, mostrando claramente las diferencias entre los dos métodos.

Los valores más bajos de degradación se presentan en el FDN mediante el método de las bolsas, con una correlación aceptable con el método *in vitro* (r = 0,75; P < 0,005, Tabla 4). Bueno *et al*. (2000) encontraron una correlación de 0,9 (P < 0,01) entre los dos métodos para la degradación de la MS de ocho sustratos forrajeros y concentrados, así como entre las tasas de degradación (r = 0,71; P < 0,05), aunque en ese experimento no se estudió la cinética de degradación *in situ*.

Tabla 4. Correlación (Pearson) encontrada entre la degradación *in situ* e *in vitro* para cada una de las fracciones en los 5 forrajes estudiados (n = 52).

Variable	In situ		
	ME	RIE	FDN
in vitro	0.94 (P<0.001)*	0.87 (P<0.001)	0.75 (P<0.005)

* Valores en paréntesis indican la significancia de la correlación.

Tabla 5. Correlación general (Pearson) para los dos métodos en las tres fracciones estudiadas (n = 52, valores de degradabilidad ruminal).

Variable	In situ*
In vitro*	0.877 (P<.0001)

* Valores en paréntesis indican la significancia de la correlación.

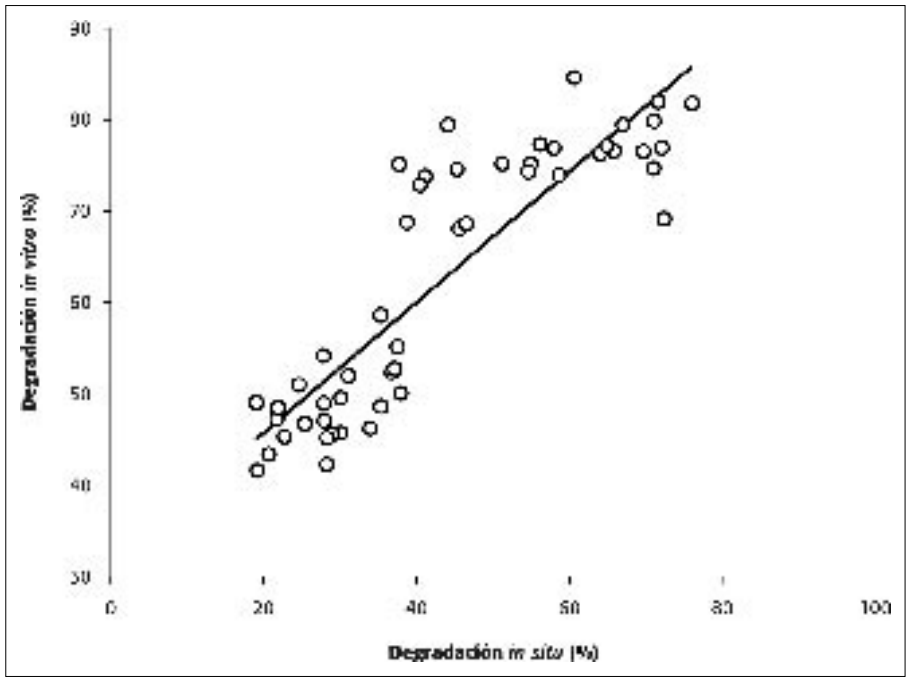

Figura 1. Relación entre las dos técnicas de degradabilidad ruminal de pastos tropicales Los círculos corresponden a 56 observaciones *in vitro* y 52 observaciones *in situ*. Y = 31.36 + 0.7156X; r = 0.876; r^2 = 0.764.

Nozière y Michalet-Doreau (1996), encontraron una reducción de la actividad enzimática (ß-D-xylosidasa y ß-D-glucosidasa) dentro de bolsas incubadas en el rumen, en comparación con la actividad en la digesta ruminal y que estas diferencias en actividad de los microorganismos asociados a las partículas era independiente de la calidad del forraje en la bolsa. Concluyen que la baja actividad fibrolítica en las bolsas lleva a una subestimación de la digestibilidad de la fibra *in vivo.* En este experimento la subestimación estuvo entre 9,3 y 27,9 puntos porcentuales, siendo más grandes las diferencias en la fracción FDN (22,4% como promedio en los cuatro pastos), seguido de la fracción RIE (19,7%) y menor en ME (15,6%).

La baja degradación encontrada en la fracción RIE, con respecto a la degradación del FDN, podría estar asociada con metabolitos no solubles en etanol, como las sapogeninas que hacen parte de las saponinas encontradas en Brachiaria (Pires *et al*., 2002) y/o taninos u otros compuestos terpenoides, posiblemente presentes en Colosuana (Kaul y Vats, 1998). Sin embargo, Wang *et al.* (1998), inoculando extractos de *Yucca schidigera* en fermentaciones *in vitro* con el sistema Rusitec®, en un estudio sobre el efecto de saponinas esteroidales sobre la actividad ruminal, no encontraron efectos sobre la producción total de gas, metano o producción de bacterias, aunque sí una reducción de los protozoos. Bueno *et al.* (2000), encontraron alta relación entre los dos métodos (r =0,9, P < 0,01). Estos autores señalan que uno de los problemas con la técnica *in situ* es la pérdida de material por la porosidad de las bolsas, que no ocurre con el método *in vitro*, pues el residuo insoluble se filtra en crisoles de poro mucho más pequeño.

Meyer y Mackie (1986), estudiando la entrada de bacterias a bolsas de poliéster con poros de varios tamaños, encontraron diferencias en la concentración de microorganismos dentro de las bolsas y en el medio circundante: 10% menos microorganismos en bolsas con poros de 5 y 10 μm y esta concentración se incrementaba con bolsas de 53 μm. En el caso estudiado las bolsas tenían 53 μm, lo cual permitía la entrada y salida libre de fluido, partículas pequeñas y microorganismos, permitiendo

la desaparición del sustrato, tanto por degradación microbial como por solubilización y escape de partículas.

Resultados de Trabalza *et al*. (1992), incubando bolsas de diferente material *in vitro*, encontraron que la acumulación de gas dentro de bolsas con menos de 50 μm, mostraban una reducción en la desaparición de la MS y que esto podía ser causado por una baja en el pH dentro de la bolsa, lo cual resulta de un deficiente intercambio de fluidos con el medio circundante. Asumen que este problema también se presenta en bolsas incubadas en novillos alimentados con grano. En este experimento las bolsas eran de 53 μm, flotando libremente en el rumen de una vaca alimentada con solo forraje. Sin embargo, no es posible monitorear las condiciones de las bolsas suspendidas en el rumen de un animal canulado, sin afectar el ambiente anaerobio dentro de éste, para establecer si hay acumulación de gas y reducción de pH dentro de las bolsas. Varel y Kreikemeier (1995) obtuvieron diferentes resultados al comparar los dos métodos, siendo los valores *in situ* más altos que los obtenidos *in vitro.*

Conclusiones y recomendaciones

La degradación ruminal de forrajes tropicales, llevada a cabo por dos métodos, presentó valores diferentes aunque con alto grado de correlación. Las diferencias entre métodos fueron mayores al comparar la fracción de fibra en detergente neutro (FDN). No fue claro si hubo una subestimación por el método *in situ* o una sobreestimación con el método *in vitro.* Las causas de la discrepancia en la valoración de la degradabilidad de estos cinco forrajes no son claras y se requiere de una experimentación más compleja, acompañada de una caracterización química más detallada, para establecer efectos de metabolitos secundarios y diferencias en estructura de la pared celular y carbohidratos solubles, sobre la degradación de cada una de las fracciones.

Es necesario, diseñar experimentos de cinética de degradación *in situ* al menos con 8 a 10 tiempos de incubación y con diferentes tamaños de bolsa y materiales sintéticos, en al menos tres animales y tres repeticiones para hacer comparaciones con la cinética *in vitro*. Establecer un método de lavado de bolsas que garantice el desprendimiento completo de bacterias y partículas del rumen adheridas al sustrato residual dentro de la bolsa.

AGRADECIMIENTOS

Especial agradecimiento al Dr. Denis O. Molina de Cornell University por su asesoría en el ajuste y estandarización de las técnicas de producción de gas *in vitro*. Al Dr. Peter Schofield, también de Cornell University, por su colaboración en el diseño, construcción y calibración del sistema de medición de gas computarizado. A la Licenciada en Biología Doris Montañéz por la preparación de muestras y otros análisis de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC International. 2003. Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th Edition, Revision # 2. AOAC International, 481 N. Frederick Ave., Suite 500, Gaithersburg, MD 20877-2417

Bueno, I.C.S.; S. P. Gobbo, A.L. Abdalla and S.L.S. Cabral Filho. 2000. A comparison between *in situ* and *in vitro* measurement of rumen degradability of Brazilian Feeds. En: www.bsas.org.uk/meetings/annlproc/Pdf2000/026.pdf. Consultado el 5/02/2005.

Church, D.C. 1988. El rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza (España). p. 305.

Cone, J. W.; A.H., Van Gelder; G.J.W., Visscher and L., Oudshoorn. 1996. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. Anim. Feed Sci. and Technol. 61:113-128.

CORPOICA. 2000. Atlas de los sistemas de producción del trópico bajo colombiano. Plan de Modernización Tecnológica de la ganadería Bovina Colombiana, 2ª ed., Corpoica, MADR, Colciencias, Fedegán. 44p.

Fox, D.G.; T.P., Tylutki; L.O., Tedeschi; M.E., Van Amburgh; L.E., Chase; A.N., Pell; T.R., Overton y J.B. Russell. 2000. The Net Carbohydrate and Protein System for Evaluating Herd Nutrition and Nutrient Excretion: Model Documentation. Mimeo No. 213, Animal Science Department, Cornell University, Ithaca, NY.

Hall, M.B. 1998. Making nutritional sense of non-structural carbohydrates. 9th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium. Gainsville, Fla. Pp:108-121.

Hall, M. B.; A.N. Pell y L.E. Chase. 1998. Characteristics of neutral detergent soluble fiber fermentation by mixed ruminal microbes. Anim. Feed Sci. and Technol. 70:23-39.

Hall, M.B.; B. A. Lewis; P. J. Van Soest y L.E. Chase. 1997. A simple method for estimation of neutral detergent-soluble fiber. J. Sci. Food, Agric. 74:441-449.

Jung H. G.; D.R. Buxton; R.D. Hatfield y J. Ralph. 1993. Forage Cell Wall Structure and Digestibility. P. 105

Kaul, V.K. y S.K. Vats. 1998. Essential oil composition of *Bothriochloa pertusa* and phyletic relationship in aromatic grasses. Biochemical Systematics and Ecology 26(3): 347-356. (India).

Menke, K.H. y H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research and Development. Vol. 28:7

Meyer, J.H.F. and R.I. Mackie. 1986. Microbiological evaluation of the intraruminal in *sacculus* digestion technique. Appl. Environ. Microbiol., 51:622-629.

Mertens, D.R. y J.R. Loften. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kineticks *in vitro*. J. Dairy Sci. 63 : 1437 – 1446.

Nozière, P. y B. Michalet-Doreau. 1996. Validation of in sacco method: influence of sampling site, nylon bag or rumen contents, on fibrolytic activity of solid-associated microorganisms. Anim. Feed Sci. and Technol 57, 203-210.

Ørskov, E.R. y I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science, Cambridge 92: 499-503.

Ørskov, E R.; F.D. De Hovell y F. Mould. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Trop. Anim. Prod. 1980 5,3: 195-213.

Pell, A. N. y P. Schofield. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. J. dairy Sci.76:1063-1073.

Pell, A.N.; P.H. Doane y P. Schofield. 1997. *In vitro* digestibility and gas production. In: Campos, O.F., Lizieire, R. S. Figurerido, E.A. (eds.). Simposio sobre tópicos especiais em Zootecnia. Sociedade Brasileira de Zootecnia, Juiz de Fora, MG-Brazil, pp. 110-132.

Pires, S.U., A.T.C. Taketa, G. Grossmann y I.P. Schenkel. 2002. Saponins and sapogenins from *Brachiaria decumbens*, Stapf. J. Braz. Chem. Soc. Vol. 13, No 2:135-139.

Pulido, R., C.D. Wood y J.D. Leaver. 1998. Estudio de la cinética de la fermentación *in vitro* y del residuo no fermentado del forraje disponible en la pradera y del aparentemente consumido por vacas lecheras. Arch. Med. Vet. 30 (2): 101-107.

SAS Institute. 1996. SAS/STAT®, User's Guide II. SAS Institute, Cary NC, USA.

Schofield, P. y A.N. Pell. 1995. Validity of using accumulated gas pressure readings to measure forage digestion *in vitro*: a com-

parison involving three forages. J. Dairy. Sci. 78:2230-2238.

Schofield, P. 2000. Gas production methods. In: Farm Animal Metabolism and Nutrition, Chapter 10. Cab International, UK. pp. 209-232.

Theodorou, M.K., B.A. Williams, M.S. Dhanoa, A. B. McAllan y J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 48: 185 -197.

Tilley , J.M.A. y R.A. Terry. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. Journal of the British Grassland Society 18: 104-111.

Trabalza, M., Msrinucci, B. A. Dehority, and S. C. Loerch. 1992. In vitro and In Vivo Studies of Factors Affecting Digestion of Feeds in Synthetic Fiber Bags' J. Anim. Sci. 70:296-307.

Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. (2nd Ed.) Cornell University Press, " Ithaca, NY.

Van Soest, P. J., and M.S. Allen. 1993. Limitations of prediction systems for digestibility and ration balancing. Pages 196-210. Silage Production from Seed to Animal. NRAES. Ithaca, N. Y.

Van Soest, P. J., M.E. Van Amburgh y L.O. Tedeschi. 2000. Rumen balance and rates of fiber digestión. Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, Rochester, NY. pp. 150-166.

Varel, V. and K.K. Kreikemeier. 1995. Comparison of *in vitro* and *in situ* digestibility methods. Technical note. J. Anim. Sci. 73:578-582.

Wang, Y., T. A. McAllister, C.J. Newbold, L.M. Rode, P.R. Cheque, K.J. Cheng. 1998. Effects of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (RUSITEC). Anim. Feed Sci. and Technol. 74: 143-153.