

## ARTÍCULO CIENTÍFICO

Dora Elisa Sánchez<sup>1</sup>,  
Luis Carlos Arreaza<sup>2</sup> y  
Beatriz Abadía<sup>3</sup>

## ABSTRACT

**Title: Study of the *in vitro* degradation kinetics of four tropical grasses and one temperate legume**

Four tropical grasses (*Pennisetum clandestinum*, *Brachiaria decumbens*, *Bothriochloa pertusa* and *Dichantium aristatum*) and the temperate legume (*Medicago sativa*) were compared by using the *In Vitro* Gas Transducer Technique with the aim to obtain their degradation rates (%/hr), total gas volume and final residue. Carbohydrate fractions: Whole forage = ME, Ethanol insoluble residue = RIE and Neutral Detergent Fiber = FDN, from the four grasses were prepared from whole material from each one and incubated with rumen fluid up to 48 hours in a closed computerized *in vitro* gas system. Data from the incubations were analyzed by a non linear regression, fitting gas data to an exponential equation from Mertens & Loften (1980). Gas accumulation was recorded via pressure transducers connected to 50 ml bottles with substrate (100 mg) and medium (8 ml) plus rumen fluid as inoculum (2 ml). Data were recorded every 20 min via an analog/digital card attached to a computer. Voltages recorder were converted to ml of gas in a spreadsheet using Excel® macros. The highest gas production was found in whole forage from *B. decumbens*: 39.4 ml and the lowest was in NDF from alfalfa: 8.4 ml in 48 hours.

Higher degradability was found in NDF from Kikuyu grass: 77% ± 9.8, and the lowest degradation was observed in NDF from angleton: 47% ± 2.3. The low gas production from NDF in all 5 forages was associated with the lignin content in the substrate. The kinetic analysis by curve subtraction for the soluble carbohydrates was consistent for alfalfa but not for the grasses.

**Key words:** Tropical grasses, *in vitro* gas production, carbohydrate degradation.

Recibido: febrero 17 de 2005.  
Aceptado: mayo 2 de 2005.

1. Investigadora. Laboratorio de Química, Programa de Fisiología y Nutrición Animal. C.I. Tibaitatá, CORPOICA.
2. Investigador. Programa de Fisiología y Nutrición Animal. C.I. Tibaitatá, CORPOICA.
3. Directora Laboratorio de Química. Programa de Fisiología y Nutrición Animal, C.I. Tibaitatá, CORPOICA.

## Estudio de la cinética de degradación *in vitro* de cuatro forrajes tropicales y una leguminosa de clima templado

## RESUMEN

Cuatro gramíneas tropicales (*Pennisetum clandestinum*, *Brachiaria decumbens*, *Bothriochloa pertusa* y *Dichantium aristatum*) y una leguminosa de la región templada (*Medicago sativa*) fueron comparadas mediante la técnica de producción de gas *in vitro*, con el fin de establecer los parámetros de degradación ruminal (volumen total de gas producido, tasa de degradación de carbohidratos solubles e insolubles y tiempo lag) para ser usados en el sistema CNCPS (*Cornell Net Carbohydrate and Protein System*). Se emplearon tres preparaciones o fracciones de cada gramínea que consistieron en la materia seca entera (ME), el residuo insoluble en etanol (RIE) y la fibra en detergente neutro (FDN). El experimento consistió en cuatro incubaciones por 48 horas de cada fracción y cada forraje, registrándose la producción total de gas durante 48 horas en un sistema computarizado cerrado. Para efectos cuantitativos y análisis detallado de la cinética de las curvas y tasas de producción de gas en las fermentaciones *in vitro*, se aplicó un modelo matemático exponencial  $Y = a*[1 - \exp\{-b*(X-c)\}]$ , para el cálculo de las tasas de degradación usadas por el sistema CNCPS. La producción de gas se registró mediante transductores digitales de presión, acoplados con frascos Wheaton de 50 ml con sustrato (100 mg), medio (8 ml) e inóculo ruminal (2 ml) y conectados a una tarjeta de adquisición de datos en un ordenador común, en el que se registraron las diferencias de presión cada 20 min. El valor más alto de producción total de gas a las 48 horas de incubación fue para el ME de *B. decumbens* con 39,4 ml y el más bajo fue de 8,42 ml para el FDN de alfalfa. La degradación total más alta fue para el FDN de Kikuyo con 77% ± 9,8 y la más baja en el FDN de Angleton con 47% ± 2,3. La baja producción de gas de la fracción fibrosa (FDN) de los cinco forrajes estuvo altamente asociada con la concentración de lignina en el sustrato. El análisis de la cinética de las fracciones solubles mediante la sustracción de curvas sólo mostró ajuste definido y claro para la alfalfa.

**Palabras clave:** Forrajes tropicales, producción de gas *in vitro*, degradabilidad de carbohidratos.

## INTRODUCCIÓN

DEBIDO A QUE LA CALIDAD de los forrajes se relaciona directamente con la producción de leche y carne bovina (Van Soest, 1993), así como con el crecimiento de los rumiantes (Van Soest, 1994), se hace necesario la aplicación de métodos más exactos para evaluar el valor nutricional de los forrajes y proporcionar a los nutricionistas información que permita formular dietas desde el punto de vista fisiológico y económico, que optimicen la productividad animal (Pedraza, 1988).

Los materiales forrajeros para alimentación animal contienen una mezcla compleja de carbohidratos que se digieren a diferentes tasas en el rumen (Van Soest, 1993). Uno de los mayores constituyentes en la dieta de los bovinos y otros rumiantes son los carbohidratos,

los cuales constituyen la mayor fuente de energía para las bacterias. En el análisis de cinética de degradación, el sustrato se puede tratar como un simple agregado que se digiere a una tasa fraccional en el tiempo o como múltiples agregados, cada uno de los cuales tiene una tasa característica de digestión. Esta última aproximación simula más apropiadamente la fermentación de carbohidratos en el rumen, debido a que las diferentes fracciones de carbohidratos, como la fibra y los carbohidratos no estructurales son digeridos a tasas diferentes (Schofield, 2000).

Los métodos de análisis de fermentación *in vitro* tradicionales miden la desaparición del sustrato y no consideran los sustratos solubles, mientras que la medición de gases se enfoca en la apari-

ción de los productos de fermentación. Aunque los métodos *in vitro* tradicionales han sido muy usados, presentan algunas desventajas: primero, los análisis de fibra destruyen la muestra y son necesarias diferentes muestras para cada período a evaluar, haciendo tediosos estos sistemas de evaluación de cinética de digestión y sujetos a poca repetibilidad; además, los componentes solubles de los forrajes son de difícil determinación y emplean grandes cantidades de muestra, lo cual limita los análisis en aquellas que son de poca disponibilidad, como las fracciones aisladas de paredes celulares (Pell *et al.*, 1993).

Los valores de degradabilidad obtenidos por producción de gas *in vitro*, presentan diferentes aplicaciones. Principalmente, la técnica facilita el estudio de la cinética de digestión de los forrajes, (Pell *et al.*, 1993) aportando valores sobre tasas de degradación de las fracciones de carbohidratos solubles e insolubles requeridos por los sistemas de valoración de dietas para bovinos como el CNCPS (*Cornell Net Carbohydrate and Protein System*) (Fox *et al.*, 2000) y el sistema NRC-1996, para predecir la respuesta productiva del ganado vacuno a partir del contenido de nutrientes de la dieta. El sistema CNCPS no fue diseñado específicamente para formular raciones, sino para valorar la adecuación de una dieta previamente establecida para unas condiciones de producción determinadas (Guada, 1996). El sistema CNCPS requiere información de las fracciones solubles e insolubles de carbohidratos; divide los carbohidratos en cuatro fracciones: Fracción A (azúcares, ácidos orgánicos), Fracción B1 (almidones, sustancias pécticas), Fracción B2 (fibra digestible) y la fracción C que es el residuo indigerible.

La información producida mediante análisis de la cinética de degradación por producción de gas *in vitro*, también se emplea para evaluar si la digestión de la fibra está siendo afectada por componentes secundarios o factores anti-nutricionales de la planta, como taninos, alcaloides o saponinas que frecuentemente se encuentran en los forrajes tropicales. La degradabilidad de la fracción fibrosa no debe ser afectada por la presencia de estos componentes inhibitorios, ya que normalmente son removidos durante la extracción con el detergente neutro (Schofield, 2000; Pell *et al.*, 1997). Mediante esta técnica, también se detectan las diferencias debidas a los métodos de preservación de los forrajes (Doane *et*

*al.*, 1997). Comúnmente, el valor energético de los alimentos se predice con base en los contenidos de fibra en detergente ácido (FDA); los valores de gas muestran que, pese al método de preservación de los alimentos --y a pesar que el contenido de FDA sea muy similar--, los valores de energía predichos no son similares; esto se logra al comparar forrajes secos por liofilización que aportan una mayor producción de gas con respecto al correspondiente ensilaje y un contenido de FDA igual. Estas diferencias debidas a los métodos de preservación son más grandes cuando los forrajes contienen más material soluble, debido a que la fracción de componentes solubles en detergente neutro es más probable que sea degradada durante el proceso de ensilaje (Pell *et al.*, 1997).

Los valores obtenidos por la técnica de producción de gas *in vitro* pueden ser utilizados para estimar el potencial de producción de cualquier forraje o alimento, mediante las relaciones matemáticas establecidas por Menke y Steingass (1988) y Robinson y Getachew (2002). Además, de acuerdo con Makkar (2002), se pueden hacer estimaciones de digestibilidad de la materia orgánica y energía metabolizable utilizando la producción total de gas y el contenido de PC.

Las cuatro especies de gramíneas seleccionadas corresponden a los pastos de mayor distribución en Colombia de acuerdo con Pulido *et al.*, 2000. La gramínea *Pennisetum clandestinum* o Kikuyo, (originaria de Kenia) es el pasto predominante en los sistemas de producción de leche en los altiplanos andinos de más de 2000 m.s.n.m. La especie *Brachiaria decumbens* (originaria de Uganda) es el pasto de mayor expansión en las sabanas de altillanura y Pie de Montes en la Orinoquía colombiana y en otras regiones andinas. Las gramíneas *Bothriochloa pertusa* o Colosuana o kikuyina (originaria de Kenia y Tanzania) y *Dichantium aristatum* o Angleton (originaria de la India, sur de Asia y este de África), están ampliamente distribuidos por los valles del Magdalena, Cauca, Sinú y sabanas de la región Caribe colombiana, considerándose estas cuatro regiones como las más productoras de carne y leche en Colombia (Pulido *et al.*, 2000).

Con este trabajo se buscó establecer y evaluar los parámetros de degradación de las fracciones solubles e insolubles de carbohidratos contenidos en las gramíneas mencionadas, mediante la técnica

de producción de gas *in vitro*, con el fin de obtener información detallada sobre la calidad nutricional de forrajes de pastoreo común en el trópico, que contribuyan a predecir con mayor precisión los rendimientos productivos del ganado vacuno a partir del contenido de nutrientes de su dieta y su comportamiento en la fermentación ruminal.

### Materiales y métodos

Cuatro gramíneas de uso común en Colombia y representativas del trópico bajo y trópico alto fueron seleccionadas para el ensayo. Los materiales incluidos fueron: *Pennisetum clandestinum*, pasto de clima frío proveniente del C.I. Tibaitatá con corte a 60 días de rebrote; *Brachiaria decumbens*, pasto del piedemonte del Meta proveniente del C.I. La Libertad con corte a 30 días de rebrote; *Bothriochloa pertusa*, pasto del norte del Alto Magdalena (Tolima), proveniente de la finca Cambao, de época seca con 35 días de rebrote; y *Dichantium aristatum*, pasto del Valle del Sinú proveniente del C.I. Turipaná, época seca cortado a 35 días de rebrote. También, se analizó *Medicago sativa* proveniente del C.I. Tibaitatá, cortado en época de floración.

A cada uno de los materiales se les practicaron análisis de materia seca (MS), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE) (AOAC, 2003), fibra en detergente neutro (FDN) (Van Soest *et al.*, 1991), cenizas (AOAC, 2003), carbohidratos no estructurales totales (CNET) (May *et al.*, 1997), 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).

*Presencia de saponinas.* En todos los forrajes se determinó la presencia de saponinas mediante parámetros de calidad (índice de hemólisis e índice de espuma) siguiendo los procedimientos de Calderón, 1963 y Olessek, 2002, ya que estas son pruebas específicas para comprobar la existencia de saponinas. Se utilizaron como estándar saponinas de *Quilaja saponaria*, patrón que presenta un índice de espuma de 20.000 y un índice de hemólisis de 40.000.

*Condiciones de incubación in vitro.* El fluido ruminal se colectó de un animal Holstein fistulado y alimentado bajo pastoreo continuo con *Pennisetum clandestinum* (Kikuyo). El inóculo se tomó en termo de 0,5 L, mantenido a 39 °C

con agua caliente hasta el momento de la colecta que se realizó entre 10:00 am y 11:00 am. El termo se llenó completamente de fluido ruminal filtrado a través de 4 capas de gasa. En el laboratorio se trasladó a un erlenmeyer mantenido a 39 °C en baño María y con flujo continuo de CO<sub>2</sub>, filtrando de nuevo en 4 capas de gasa y una lámina de lana de vidrio entre las capas de gasa. 100 ml de este fluido filtrado se empacaron en un frasco Wheaton de vidrio ámbar, el cual se selló con tapón de butilo y agrafe y se mantuvo a 39 °C, mientras se inoculaba cada frasco de incubación utilizando una jeringa de 3 ml.

Para todas las incubaciones se utilizó un sistema compuesto por una cámara de incubación calentada por una bombilla de 100 w, con agitador magnético intermitente, 16 transductores de presión (185PC15DT pressure sensors, MicroSwitch, Honeywell Division) conectados a los frascos de incubación, un ordenador IBM® compatible con el soporte lógico Atlantis® for Windows (Lakeshore Technologies, Chicago, IL) y una tarjeta de conversión análogo /digital (ADA2210, Real Time Devices, State College, PA) conectada a una de las bahías libres de la tarjeta madre. Los datos de voltaje fueron transmitidos desde los transductores a la computadora vía la tarjeta A /D y posteriormente transferidos a una hoja de cálculo (Excell® 7), para convertir los voltajes generados a ml de gas, normalizando los volúmenes a lo que representa el gas obtenido de cada fracción de cada forraje contenido en 100 mg de MS de forraje entero, para posteriormente realizar los análisis de curvas correspondientes (Schofield, 1995). Los transductores de presión fueron calibrados de acuerdo al procedimiento descrito por Pell y Schofield (1993), ajustando la respuesta del sensor a la presión atmosférica del centro experimental (564 mm de Hg), con la presión de una atmósfera (760 mm Hg) y a 39 °C.

De cada material 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). Las incubaciones se realizaron teniendo en cuenta el procedimiento descrito por Pell y Schofield (1993). Al finalizar las incubaciones se midió el pH a cada frasco, el cual debe encontrarse entre 6.8 y 6.2 para considerar la incubación ajustada a las condicio-

nes de crecimiento microbial óptimas. Si había valores por debajo de 6.2 o superiores a 7.0, la incubación se descartó, procediendo a repetirla con los mismos materiales. Finalmente, se tomó alícuota de 1.0 ml para análisis de ácidos grasos volátiles: AGV. Los residuos sólidos se lavaron con detergente neutro según lo descrito por Pell y Schofield (1995), filtrándolo con vacío ligero sobre una bolsa Ankom® abierta (descosida) y tres lavados con etanol y acetona. La degradación total se cuantificó por diferencia de pesos entre el material inicial seco y el residuo seco a 105 °C.

*Análisis estadístico.* Los datos se trabajaron mediante un análisis de regresión no lineal con el programa NLREG®, aplicando el modelo exponencial:

$Y = a \{1 - \exp[-b \cdot (X - c)]\}$ , propuesto por Mertens y Loftén, (1980), donde a = máxima producción posible de gas (ml), b = tasa de degradación (%/h), c = tiempo de retardo o lag (h); se asume que la cinética de degradación de la fibra se ajusta a un modelo de cinética de primer orden, con la adición de un tiempo de retardo lag discreto (Smith *et al.*, 1971).

La estimación de parámetros en el modelo exponencial se determinó en el programa NLREG® mediante el algoritmo Levenber-Marquardt y la significancia de cada parámetro se estableció mediante prueba de "t" entre el parámetro y el error estándar (parámetro / error estándar). Cuando el valor "t" era lo más alto posible y con una significancia a un alfa < 0.01, el valor se aceptó. En el caso contrario, se cambió de modelo no lineal. El segundo criterio para escoger los parámetros se relacionó con el coeficiente de regresión o grado de ajuste del modelo. Sin embargo, el criterio principal fue el valor de "t" para cada parámetro y la prueba de "F" para el ajuste del modelo. Para el ajuste de curvas en las tres fracciones principales, se usó el modelo exponencial ya mencionado, pero para el ajuste de las curvas generadas por los carbohidratos solubles (A y B1), se utilizó el modelo logístico:

$Y = a / (1 + \exp(2 - 4 \cdot b \cdot (c - X)))$ , (Schofield y Pell, 1995), debido al pobre ajuste del modelo exponencial de Mertens y Loftén a los datos y a la no significancia de los parámetros con la prueba de "t". La comparación de los parámetros de las fracciones solubles mediante análisis de varianza y prueba de significancia

no fue posible, debido a que en algunas fracciones (Kikuyo, Angleton) se ajustó un modelo exponencial de dos parámetros, lo que hace no comparables los valores.

Posteriormente, los estimados de los parámetros entre sustratos fueron analizados en un diseño completo al azar, mediante el procedimiento Modelos Lineales Generales: GLM de SAS® y las medias comparadas mediante la prueba LSD (Diferencia Mínima Significativa) a un Alfa de 0,05. El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y = \mu + S_i + I_j(S_j) + \epsilon_{ij}$$

Donde, Y = parámetro,  $\mu$  = media general, S<sub>i</sub> = sustrato incubado, I<sub>j</sub>(S<sub>j</sub>) = incubación en cada sustrato o repetición,  $\epsilon$  = error asociado. La variable incubación o repetición se incluyó en el modelo para establecer si hubo o no diferencias debidas a esta posible fuente de variación.

## Resultados y discusión

Se evaluaron las producciones de gas a partir de la fermentación microbial de forrajes tropicales y se compararon los parámetros de degradación de las fracciones solubles e insolubles de carbohidratos mediante el uso de un modelo matemático exponencial. La caracterización nutricional de los forrajes utilizados se realizó de acuerdo con los métodos AOAC (2003). La Tabla 1 describe la composición química de los forrajes. Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de Química del Programa de Fisiología y Nutrición Animal de CORPOICA en el C.I. Tibaitatá.

Las tasas de degradación de las dos fracciones solubles de carbohidratos (A y B1) que no pueden ser aisladas ni fermentadas por sí solas, se determinaron mediante sustracción entre las curvas de ME-RIE = Fracción A, entre las de RIE-FDN = Fracción B1, de acuerdo con Doane *et al.* (1997) y Hall *et al.* (1998).

Teniendo en cuenta que el CNCPS predice la digestión de nutrientes, basada en la competencia entre digestión ruminal y pasaje (Schofield, 2000), y por sugerencia de la Universidad de Cornell, las tasas de degradación de fracciones de carbohidratos para todas las gramíneas utilizadas y para la leguminosa, se determinaron mediante regresión no lineal utilizando el modelo exponencial propuesto por Mertens y Loftén (1980), teniendo en cuenta que para el CNCPS, la degradación de los diferentes sustratos se inicia inmediatamente, sin

**Tabla 1.** Composición química de los cuatro forrajes utilizados en el estudio. Los carbohidratos no estructurales se determinaron mediante diferencia: CNET = 100 – (PC + EE + Cen + FDN).

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

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

tener en cuenta el tiempo lag o de colonización. Sin embargo, es claro que con las ecuaciones logísticas o de agregados múltiples (*multipool*) se logra un mejor ajuste (Schofield, 2000), cuando sólo se quiere comparar la cinética de fermentación de forrajes y sus fracciones.

En la Base Interna de Recursos Alimenticios para Animales, establecida en el programa de Fisiología y Nutrición Animal del C.I. Tibaitatá desde 1997, se registran todos los análisis realizados a muestras que provienen de las diferentes regiones de Colombia. En la Tabla 1 se observa que el mayor contenido de proteína lo presentaron Kikuyo y Brachiaria con 20,7 y 15,33% respectivamente, valores que se aproximan a los que se reportan en esta base de 16,01% (n =130) y 13,74% (n =108) en contenido de PC para los mismos materiales. A su vez, Kikuyo y Brachiaria presentaron los menores valores de FDA con 22,7 y 21,9% respectivamente, y también los menores valores de lignina con 4,08 y 8,0%, respectivamente. Los valores reportados en la base para los mismos materiales, en el mismo orden, son 28,51% (n =55) y 34,47% (n =40) para FDA y 3,98% (n =27) y 6,83% (n=14) para lignina. Se observa que los valores de FDA de los materiales aquí estudiados son más bajos que los de la base, y los de lignina son más próximos. Esto indicaría que la edad de los pastos de la base es muy variable, pues es un promedio de muchas muestras de diferentes regiones y estados fenológicos del forraje. Los valores de FDN para los dos materiales son muy similares 52,72% y 53,5% respectivamente, pero sí difieren con los resultados de FDN de la base de datos: 59,02% (n =104) y 67,12% (n =29).

También se observa en la misma Tabla 1 que los valores más bajos de proteína fueron para Colosuana y Angleton con 2,77% y 6,55% respectivamente; de igual forma, estos mismos materiales obtuvieron los más altos valores de FDN

(70,17% y 69,07%) y los más altos valores de FDA (44,64% y 40,09%), respectivamente. Los valores de lignina fueron muy parecidos (10,46% y 11,07%) para Colosuana y Angleton, respectivamente. En estos materiales los valores de PC de la base de recursos alimenticios difieren para Colosuana 6,78% (n=18), pero son muy similares para Angleton 7,39% (n=93). Los valores de FDA de la base son inferiores 33,27% (n =16) y 33,99% (n=102) para los mismos materiales, comparados con los que se utilizaron en este trabajo. Esto se explica ya que Angleton y Colosuana eran pastos maduros, de época seca, cortados con 35 días de rebrote.

Respecto a la leguminosa alfalfa, se observa que obtuvo el valor más alto de CNET (33,31%) y de lignina (15,12%), frente al Kikuyo con 11,19% de CNET y 4,08% de lignina. La alfalfa obtuvo el valor más bajo de FDN 42,01% versus Colosuana con 70,17%. Los altos valores de lignina en la alfalfa se pueden atribuir a que la muestra que se analizó era de material completo (tallos y hojas) en período de floración avanzada.

La Tabla 2 muestra los parámetros de degradación ruminal encontrados por regresión no lineal, usando el modelo exponencial para cada fracción de cada especie forrajera, donde: *a* = producción máxima de gas (ml), *b* = Tasa de degradación (ml·h<sup>-1</sup>) y *c* = Tiempo de retardo lag (h). En el ME la mayor producción de gas la presentó Brachiaria con 37,72 ml comparado con Angleton con 22 ml (P < 0,05). Para la fracción FDN se observaron diferencias aún mayores que para la fracción de ME y RIE. El parámetro *a* fue de 26,4 ml para Brachiaria y sólo de 8,5 ml para alfalfa. El parámetro *b* fue 0,044 ml·h<sup>-1</sup> para alfalfa versus 0,032 ml·h<sup>-1</sup> para Brachiaria. A su vez, el parámetro *c* de la misma fracción fue de 1,93 h para alfalfa y de 3,73 h para Brachiaria. Este último forraje tuvo la máxima produc-

ción de gas con una tasa de degradación más lenta y un tiempo de colonización microbial más largo que la alfalfa, en la cual, todos los azúcares solubles se degradan más rápidamente a diferencia de los demás materiales. No hubo diferencia significativa de las incubaciones dentro de cada sustrato (P > 0,1 < 0,9).

Se observó que, a pesar que el mayor contenido de CNET lo presentó la alfalfa, no fue precisamente este material el que tuvo la mayor acumulación de gas para ME: la mayor producción de gas la presentó la fracción de ME de Brachiaria, cuyo contenido de CNET fue de 22,91%. Sin embargo, también se observó que la tasa de degradación más alta (parámetro *b*), lo obtuvo la alfalfa con 0,128 ml·h<sup>-1</sup>, aunque no fue el mayor productor de gas con 26,3 ml. Las tasas más bajas fueron para Colosuana, Brachiaria y Angleton (0,037, 0,040 y 0,038 ml·h<sup>-1</sup>, respectivamente). Para la fracción de ME, Kikuyo obtuvo el mayor valor de retardo lag en la producción de gas con 1,66 h. Tanto en Colosuana como en Angleton, la curva de producción de gas del FDN cruzó la curva de producción del RIE aproximadamente a las 8 horas de incubación. El intervalo entre estas curvas antes de cruzarse es tan pequeño que supone un bajo contenido de carbohidratos no estructurales en estos pastos y un efecto negativo en la degradación de la fibra por la posible presencia de metabolitos secundarios del tipo terpenoides (Kaul y Vats, 1998), taninos y /o saponinas (Pires *et al.*, 2002).

Las Figuras 1 a 5 muestran la acumulación de gas de las tres fracciones (ME, RIE y FDN) en los diferentes forrajes. Cada curva es la media de cuatro repeticiones (incubaciones) que en el análisis de varianza no fueron significativamente diferentes (0,1 > P < 0,89) en cada fracción y para cada forraje. Un análisis inicial de la producción de gas *in vitro* muestra diferente comportamiento en las curvas.

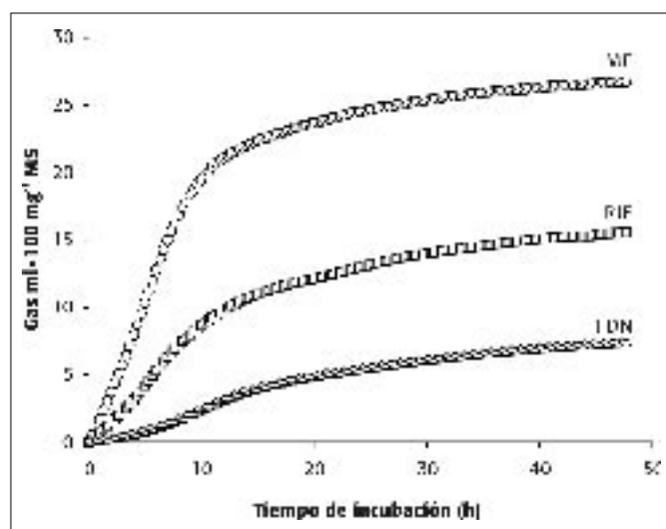
**Tabla 2.** Parámetros hallados por regresión no lineal con el modelo exponencial de Mertens y Loften (1980), para cada fracción de cada especie forrajera. La significancia del valor del parámetro se establece por la relación: valor parámetro/error estándar. Cada parámetro estimado representa la media de cuatro repeticiones, ajustando cada curva con un total de 144 datos entre 0 h y 47,66 h.

MATERIAL ENTERO (ME)							
Forraje	Parámetro a*		Parámetro b*		Parámetro c*		R <sup>2</sup>
	Estimado	Error estándar	Estimado	Error estándar	Estimado	Error estándar	
Alfalfa	26.3d	0.0652	0.128a	0.0017	0.59b	0.0495	0.986
Angleton	22.0e	0.1506	0.038c	0.0006	0.70b	0.0669	0.994
Brachiaria	37.72a	0.682	0.040c	0.002	0.906b	0.180	0.955
Colosuana	27.8c	0.2448	0.037c	0.0007	1.23b	0.0790	0.991
Kikuyo	31.3b	0.2776	0.048b	0.0010	1.66a	0.0928	0.983
RESIDUO INSOLUBLE EN ETANOL (RIE)							
Forraje	Parámetro a*		Parámetro b*		Parámetro c*		R <sup>2</sup>
	Estimado	Error estándar	Estimado	Error estándar	Estimado	Error estándar	
Alfalfa	15.7d	0.0804	0.080a	0.0015	0.58d	0.0917	0.978
Angleton	18.8c	0.2066	0.035c	0.0008	1.14c	0.0926	0.989
Brachiaria	31.38a	1.1013	0.028d	0.0016	2.71a	0.1962	0.949
Colosuana	26.0b	0.4892	0.028c	0.0009	1.95b	0.1162	0.984
Kikuyo	25.3b	0.2263	0.049b	0.0010	2.12ab	0.0896	0.981
FIBRA EN DETERGENTE NEUTRO (FDN)							
Forraje	Parámetro a*		Parámetro b*		Parámetro c*		R <sup>2</sup>
	Estimado	Error estándar	Estimado	Error estándar	Estimado	Error estándar	
Alfalfa	8.5d	0.1076	0.044ab	0.0012	1.93c	0.11870	0.953
Angleton	19.1c	0.2083	0.042ab	0.0010	2.43b	0.0925	0.983
Brachiaria	26.4ab	0.756	0.032c	0.002	3.73a	0.1714	0.949
Colosuana	24.7ab	0.3212	0.040ab	0.0011	2.75b	0.1010	0.980
Kikuyo	25.6ab	0.3414	0.046ab	0.0013	3.06b	0.1111	0.970

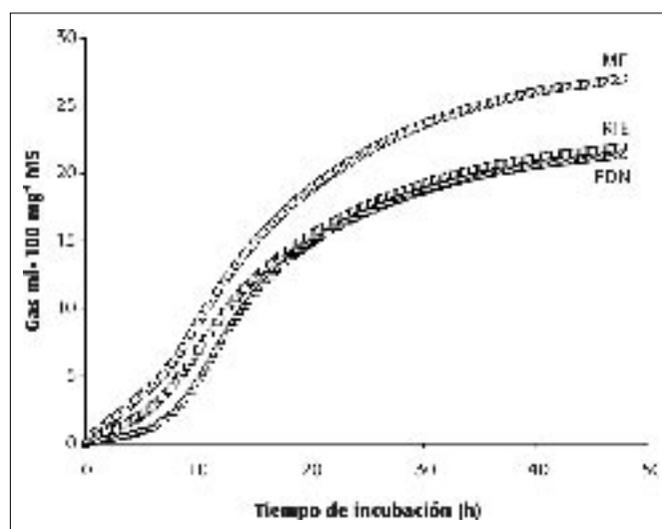
\* Valores en columnas con distinta letra, son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Así, en la alfalfa (Figura 1) no se observó un tiempo *lag* durante la fermentación del material entero, pero si hubo un retardo perceptible en la producción de gas durante la fermentación de la fracción de FDN. A su vez, con Colosuana (Figura 4) se observó un tiempo *lag* más pronunciado que con Alfalfa para todas las fracciones. Otra observación importante es que la acumulación de gas con material entero de Alfalfa fue más rápida que la observada en el resto de los materiales, con el 50% de la producción de gas ocurriendo en las primeras siete horas de fermentación. En cambio, en los otros materiales el 50% de la acumulación ocurrió entre las 15 y 17 horas. Esto tiene implicaciones importantes en el balance de nutrientes en el rumen (biomasa microbiana), y en la exactitud de las predicciones de los modelos como el CNCPS, en el cual el concepto central sobre digestión ruminal es la competencia entre tasas de pasaje y de degradación (Van Soest *et al.*, 2000).

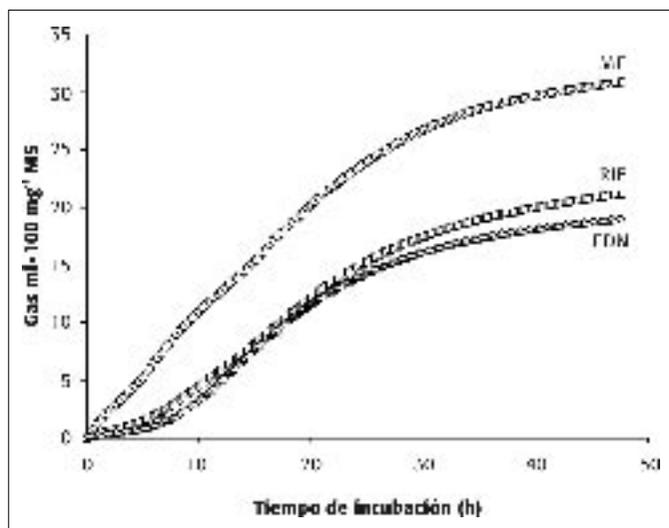
En las tres fracciones de todos los materiales, la acumulación de gas producido por el material completo ME, fue considerablemente más alta que la del RIE, y casi en todos, esta fue más alta que la del FDN. Entre Angleton (Figura 5) y Colosuana (Figura 4) las diferencias en acumulación de gas fueron más bajas; debe anotarse que, tanto en Angleton como en Colosuana, la producción de gas para la fracción RIE fue menor que la observada para la de FDN. Posiblemente esto se deba a la presencia de metabolitos secundarios que fueron extraídos con el



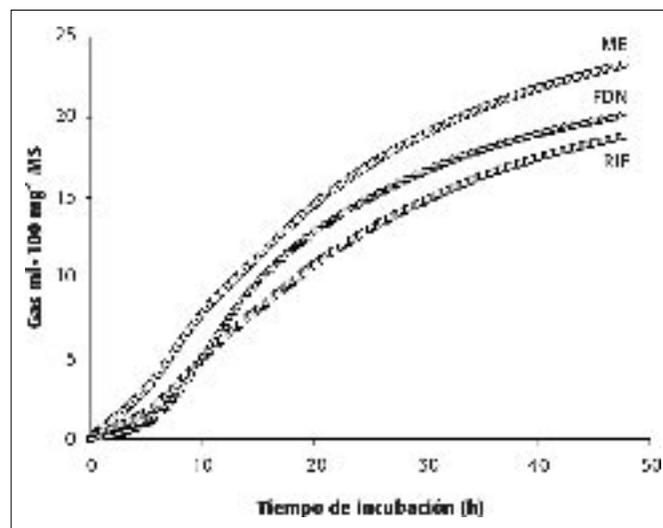
**Figura 1.** Degradación de las fracciones de alfalfa (*Medicago sativa*). ○ = Material entero (ME); □ = Residuo insoluble en etanol (RIE); △ = Fibra en Detergente Neutro (FDN).



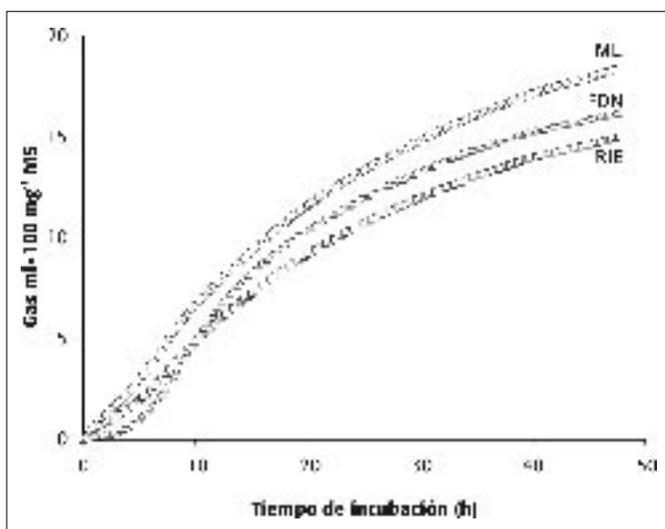
**Figura 2.** Degradación de las fracciones de Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). ○ = Material entero (ME); □ = Residuo insoluble en etanol (RIE); △ = Fibra en Detergente Neutro (FDN).



**Figura 3.** Degradación de las fracciones de *Brachiaria decumbens*. ○ = Material entero (ME); □ = Residuo insoluble en etanol (RIE); △ = Fibra en Detergente Neutro (FDN),



**Figura 4.** Degradación de las fracciones de Colosuauna (*Bothriocloa pertusa*). ○ = Material entero (ME); □ = Residuo insoluble en etano (RIE); △ = Fibra en Detergente Neutro (FDN).



**Figura 5.** Degradación de las fracciones de Angleton (*Dichantium aristatum*). ○ = Material entero (ME); □ = Residuo insoluble en etanol (RIE); △ = Fibra en Detergente Neutro (FDN).

detergente neutro, mas no con el etanol (Pell *et al.*, 2002). El contenido de carbohidratos no estructurales en alfalfa que es mayor que en las gramíneas estudiadas (Tabla 1), explica esta cinética bien definida y diferente a la de los otros forrajes.

En la especie Colosuauna se han aislado sesquiterpenoides:  $\alpha$ -seleninona,  $\tau$ -cardinona,  $\delta$ -cardinona y selemol (Kaul and Vats, 1998), los cuales se han patentado como compuestos activos para la fabricación de repelentes de insectos. No se encontraron referencias de contenido de metabolitos secundarios para Angleton, cuya cinética de degradación fue similar a la de Colosuauna (mayor producción de gas en el FDN con respecto al RIE).

El cruce de las curvas (Figuras 4 y 5) implica que hay sustancias que afectan la acción de las bacterias sobre el material compuesto por fibra y carbohidratos no solubles en etanol. Cuando estas sustancias son removidas por el detergente neutro en la extracción de FDN, conjuntamente con los carbohidratos del tipo almidones y pectinas, la acumulación de gas generada por la fermentación de la fibra insoluble es mayor.

En *Brachiaria decumbens* la cinética de producción de gas fue baja ( $0,028 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$ ) en el RIE y  $0,032 \text{ ml} \cdot \text{h}^{-1}$  con FDN). Sin embargo, las producciones máximas (parámetro *a*) de gas fueron las más altas entre los cinco forrajes (Tabla 2).

Pires *et al.* (2002) aislaron cuatro saponinas esteroidales y tres sapogeninas de las partes aéreas de *B. decumbens*. Estos compuestos, de acuerdo con Pell *et al.* (1997), pueden haber modificado la cinética de degradación del sustrato, retrasando la acción de las bacterias sobre éste, y aumentando el tiempo de colonización y la tasa de producción de gas; además, como las saponinas poseen azúcares en su estructura, éstas también pudieron contribuir a la alta producción final de gas.

En general, tanto las acumulaciones de gas (parámetro *a*), como las tasas de degradación (parámetro *b*), fueron más altas para el ME que para el FDN en los cinco forrajes. Esto demuestra la importancia que tiene el contenido de fibra para limitar la degradación de los forrajes en el rumen. De acuerdo con un análisis de regresión múltiple, la baja producción de gas *in vitro* de FDN está altamente asociada con el contenido de lignina (Figura 6). La lignina es alta en las leguminosas y, en el caso de los pastos Colosuauna y Angleton, estos fueron cosechados en época seca y con más de 30 días de edad, lo que refuerza la recomendación de utilizar dichos forrajes con períodos más cortos de descanso para evitar la lignificación y la reducción en digestibilidad y aporte de energía como AGV.

La producción máxima de gas o parámetro *a*, se correlacionó con la degradación final de la materia seca de las tres fracciones en conjunto, encontrándose un coeficiente de correlación de 0,624 ( $n= 55, P < 0,001$ ); aunque es significati-

vo, se esperaría que la correlación fuera más alta (Figura 14). Pell y Schofield (1993), mostraron que hay una correlación lineal entre la fibra digerida y el volumen de gas generado ( $r = 0,97$ ). La correlación en el presente estudio entre el gas generado por el FDN y la degradación final del sustrato fue de 0,716 ( $n = 15$ ,  $P < 0,002$ ) (Figura 7).

La Tabla 4 muestra la degradación total de los forrajes por fermentación microbiana medida como producción de gas *in vitro*. Los valores más altos de degradación se presentaron en la fracción fibrosa (FDN) de Kikuyo con un 76,72% y la más baja fue para el FDN de alfalfa con un 42,78%. Dado que existe una probable sobreestimación de los valores de "degradabilidad" de todos los materiales, consideramos estos valores como desaparición total de materia seca en vez de degradabilidad. Al finalizar las incubaciones el procedimiento se siguió según lo descrito por Pell y Schofield (1993), y Blümmel *et al.* (1997), quienes lo utilizaron para determinar la digestibilidad verdadera *in vitro*; no obstante, se sugiere precaución en la interpretación de los datos de la Tabla 4 porque, en nuestra opinión, la metodología utilizada por estos autores sobreestima la degradabilidad de los materiales cuando se compara con la técnica *in situ*. En otras publicaciones (Schofield y Pell, 1995a; y Schofield, 2000) siguen el mismo procedimiento de lavado con detergente neutro de residuo al finalizar las incubaciones.

La magnitud de la degradación del FDN de cada especie se relaciona con el contenido de lignina (Figura 6). A pesar que la alfalfa es uno de los forrajes de

mejor calidad, la degradabilidad de la fibra es baja respecto de aquellos pastos de menor calidad como el Colosuana, debido al alto contenido de lignina en los tejidos fibrosos como los tallos. Además, la lignina en gramíneas es más soluble en álcali que las ligninas de otras plantas como las leguminosas (Van Soest, 1982). Esto también se refleja en la producción total de gas del FDN de alfalfa (8,5 ml), con respecto a las gramíneas (entre 19 y 28 ml), lo que concuerda con la proporción baja de fibra digestible en este forraje (Tabla 1).

Las tasas de degradación ( $\text{ml}\cdot\text{hr}^{-1}$ ) de las fracciones en cada uno de los pastos, aunque no mostraron mayores diferencias, particularmente la tasa de la fracción B2 o FDN, no se pudieron comparar con tasas reportadas en la literatura, excepto *Brachiaria* y alfalfa. Tedeschi *et al.* (2002) reportan unas tasas de  $8\%\cdot\text{h}^{-1}$  para heno de alfalfa brasilera,  $8,3\%\cdot\text{h}^{-1}$  para *Brachiaria* fresco de México,  $8,3\%\cdot\text{h}^{-1}$  para heno de *Brachiaria* de Brasil. Fox *et al.* (2000), reportan en sus tablas  $3,0\%\cdot\text{h}^{-1}$  para fracción B2 de *Brachiaria* fresco de Brasil y  $3,5\%\cdot\text{h}^{-1}$  para heno del mismo origen y  $4,5\%\cdot\text{h}^{-1}$  en heno de alfalfa brasilera, lo que se acerca a los parámetros de degradación encontrados para los forrajes evaluados en el presente estudio.

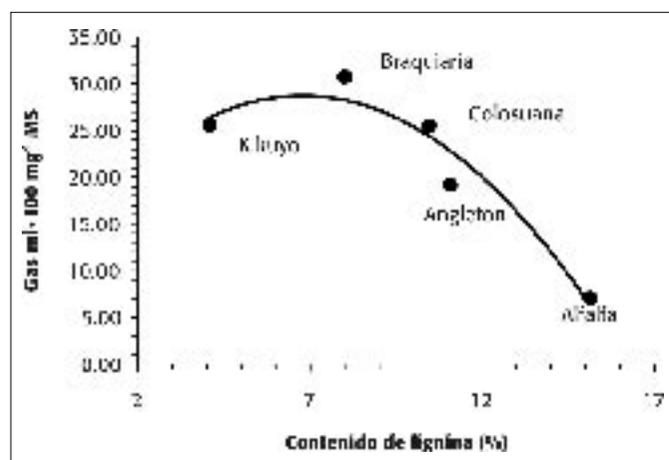
**Fracciones solubles.** La cinética de las fracciones solubles (A y B1) se determinó mediante sustracción de curvas (Stefanon *et al.*, 1996; Doane *et al.*, 1997) entre las fracciones principales: ME, RIE y FDN para cada forraje (Figuras 8 a 12). La producción de gas de las fracciones solubles (A y B1) fue más alta en la alfalfa que en el resto de los materiales. Schofield y Pell (1995) encontraron

mayor contribución en gas de la fracción soluble de alfalfa y de trébol que en gramíneas como Timothy y Guinea.

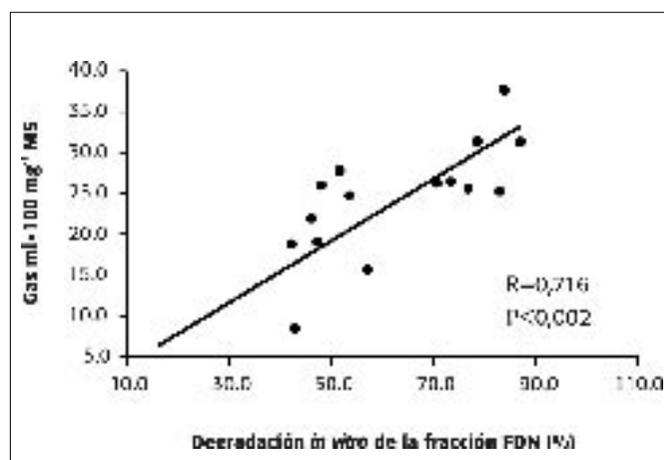
Las curvas de las fracciones solubles, mostraron una producción de gas muy baja, al comparar con alfalfa (Tabla 3, Figuras 8 a 12). La fracción A de alfalfa tuvo la mayor producción de gas (11,47 ml) y la tasa de producción más alta ( $0,134\text{ ml}\cdot\text{hr}^{-1}$ ). Así mismo, la fracción B1 de alfalfa superó ampliamente a los otros forrajes en producción total de gas (6,91 ml), aunque su tasa de producción estuvo por debajo de las gramíneas ( $0,111\text{ ml}\cdot\text{hr}^{-1}$ ), siendo Angleton el forraje con mayor velocidad en la producción de gas ( $0,624\text{ ml}\cdot\text{hr}^{-1}$ ). Los datos de sustracción de curva en las gramíneas Kikuyo en la fracción A y Angleton en la fracción B1, no ajustaron al modelo logístico, debido a que el parámetro  $c$  no tuvo significancia, por lo cual se eliminó y el ajuste se logró mediante un modelo exponencial de dos parámetros. En Colosuana, los datos no mostraron una curva definida y no ajustaron a ningún modelo (Tabla 3).

En alfalfa la sustracción de curvas se ajustó adecuadamente al modelo de Doane *et al.* (1997). Las diferencias entre ME y RIE, y entre RIE y FDN, generaron curvas definidas para las fracciones A (azúcares y ácidos orgánicos) y B1 (almidones, pectinas). En las cuatro gramíneas examinadas estas curvas no tuvieron una definición clara.

El contenido de gas de las fracciones solubles de los cinco materiales, se determinó sumando las producciones de gas de la fracción A y de la B1, se correlacionó el contenido de carbohidratos no estructurales totales CNET con la producción de gas de las fracciones solu-



**Figura 6.** Relación entre el contenido de lignina y la producción de gas del FDN de todos los forrajes y  $y = -0,3231x^2 + 4,3856x + 13,864$  ( $R^2 = 0,9343$ ).



**Figura 7.** Relación entre degradación final de la MS del FDN en todos los pastos y la producción máxima de gas (parámetro  $a$ ) en todas las fracciones de los 5 forrajes ( $n = 15$ ).

**Tabla 3.** Parámetros para las fracciones solubles (A y B1) de forrajes tropicales, hallados mediante sustracción de curvas entre las fracciones ME, RIE y FDN mediante el ajuste del modelo logístico  $Y = a / \{1 + \exp[2-4*b(c-X)]\}$ .

ESPECIE	FRACCIÓN A						R <sup>2</sup>
	PARÁMETRO a		PARÁMETRO b		PARÁMETRO c		
	Estimado	Error Estándar	Estimado	Error Estándar	Estimado	Error Estándar	
Alfalfa	11.47	0.298	0.134	0.011	1.00	0.267	0.906
Angleton	1.79	0.103	0.139	0.016	0.91	0.278	0.846
Brachiaria	6.88	0.091	0.123	0.004	0.48	0.106	0.979
Colosuana	3.29	0.098	0.111	0.007	1.14	0.194	0.935
Kikuyo <sup>1</sup>	3.22	0.779	0.144	0.045	-----	-----	0.959

ESPECIE	FRACCIÓN B1						R <sup>2</sup>
	PARÁMETRO a		PARÁMETRO b		PARÁMETRO c		
	Estimado	Error Estándar	Estimado	Error Estándar	Estimado	Error Estándar	
Alfalfa	6.91	0.122	0.111	0.007	0.84	0.237	0.957
Angleton <sup>2</sup>	0.98	0.022	0.624	0.043	-----	-----	0.951
Brachiaria	1.20	0.036	0.137	0.009	0.91	0.177	0.935
Colosuana <sup>3</sup>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Kikuyo <sup>1</sup>	2.34	0.049	0.134	0.006	0.72	0.126	0.967

<sup>1</sup> La fracción A de Kikuyo sólo ajustó con un modelo exponencial de dos parámetros ( $V = a*(1-EXP(-b*T))$ );  
<sup>2</sup> El modelo que más ajustó en esta fracción corresponde a un modelo exponencial de dos parámetros  $V = a*(1-EXP(-b*T))$ ;  
<sup>3</sup> El intervalo de datos de la diferencia de curvas en esta fracción no permitió ajustar ningún modelo de regresión. La fracción B1 de Colosuana no ajustó con ningún modelo y se consideró insignificante la porción de curva resultante de la diferencia entre RIE y FDN (Figuras 4 y 9).

**Tabla 4.** Desaparición de materia MS por fermentación microbial (degradabilidad *in vitro*).

Especie forrajera	Fracción	Gas producido ml <sup>1</sup>	D.S	MS degradada (%)	D.S
<i>M. sativa</i>	ME	26.3	0.84	70.7	3.09
	RIE	15.7	0.5	57	1.9
	FDN	8.56	0.08	42.78	1.03
<i>D. aristatum</i>	ME	22	1.1	46.04	0.95
	RIE	18.8	0.9	42.2	1.98
	FDN	19.1	1.4	47.16	2.24
<i>B. decumbens</i>	ME	37.2	5.6	83.76	0.61
	RIE	31.38	3.9	78.44	1.05
	FDN	26.4	6.5	73.37	0.89
<i>B. pertusa</i>	ME	27.8	2.1	51.61	1.62
	RIE	26	2.2	48.04	1.85
	FDN	24.7	0.7	53.45	3.33
<i>P. clandestinum</i>	ME	31.3	3.1	86.99	1.55
	RIE	25.3	1.4	82.87	1.09
	FDN	25.6	1.3	76.72	9.8

<sup>1</sup> El valor de gas corresponde al parámetro a en la ecuación exponencial, o sea, el máximo volumen posible. D.S = desviación estándar.

bles, se obtuvo un R = 0,94 (Figura 13). Se observa que, a mayor contenido de CNET, la producción de gas de la fracción soluble (A y B1) es también mayor.

El bajo contenido de CNET, y por consiguiente su baja producción de gas, hacen evidente y refuerzan la dificultad

de obtener una mayor eficiencia de la conversión alimenticia de los bovinos en el trópico, ya que no hay concordancia o coincidencia entre la cantidad de carbohidratos rápidamente fermentables con el nitrógeno fermentable proveniente de la proteína soluble de los forrajes tropi-

cales que puede estar entre 60 y 80% del nitrógeno total (Preston y Leng, 1986). De esto se desprende que la escasa cantidad de carbohidrato rápidamente fermentable, más el bajo contenido de nitrógeno total, expresado como proteína cruda en los forrajes tropicales, no permiten una eficiencia ruminal adecuada en la producción de biomasa microbial para digestión intestinal.

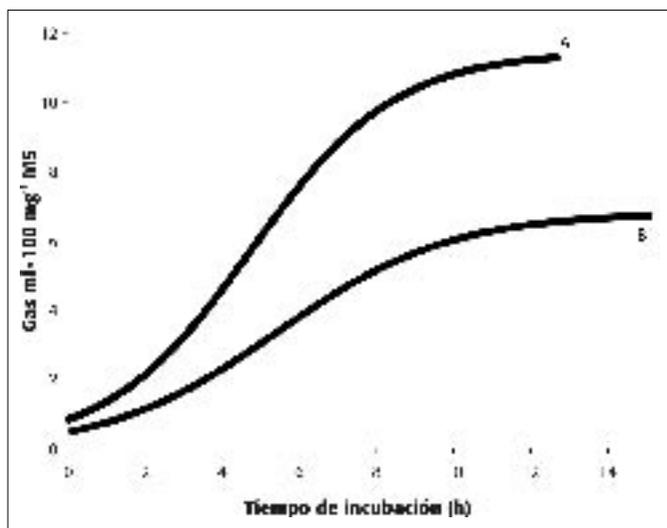
*Metabolitos secundarios.* Se observó que de los cinco forrajes, Brachiaria presentó el mayor índice de espuma (500) y se realizó prueba de hemólisis confirmando actividad hemolítica de estos metabolitos en dicho forraje cuyo valor fue el más alto (500). Aunque la alfalfa presentó alto índice de espuma (333) la actividad hemolítica de estas saponinas es muy baja (comparado con el patrón), que se confirmó por prueba de índice de hemólisis, dando un valor de 200. El Kikuyo contiene saponinas pero en una concentración muy baja, confirmando esto con los valores obtenidos de índice de espuma y de hemólisis (100 y 200, respectivamente) (Tabla 5).

En Colosuana y en Angleton, de acuerdo con los resultados de las pruebas, no se reporta la presencia de saponinas. El alto contenido de este metabolito en Brachiaria puede tener acción sobre los microorganismos ruminales debido a que estos compuestos tienen un efecto antiprotozoario y, en concentración considerable, pueden afectar el crecimiento bacteriano (Santos, 2004). Posiblemente, las bajas tasas de producción de gas o velocidad de degradación, para este material en la fracción de FDN se debieron al contenido de saponinas en el folla-je (Pires *et al.*, 2002).

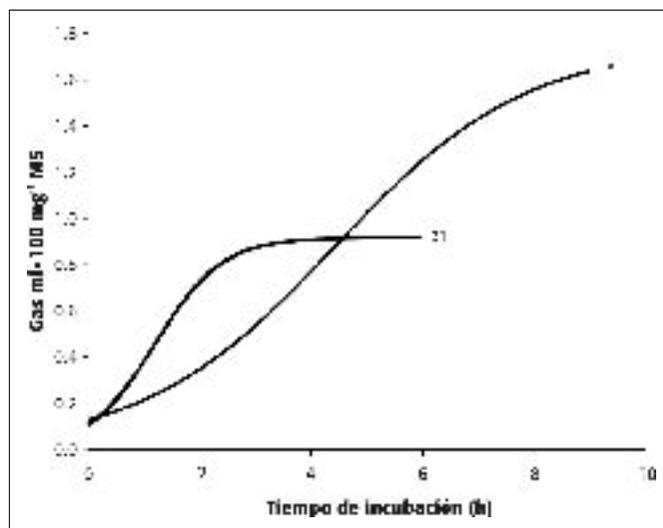
**Conclusiones**

Con este estudio se estableció una técnica de monitoreo computarizado de producción de gas *in vitro* muy útil para medir la degradación de forrajes tropicales y sus fracciones de carbohidratos. Esto permitirá crear una base de datos con información más dinámica sobre el contenido y la calidad nutricional de los forrajes comúnmente disponibles en Colombia a fin de apoyar la formulación de dietas que optimicen la fermentación ruminal y logren mejorar la productividad ganadera.

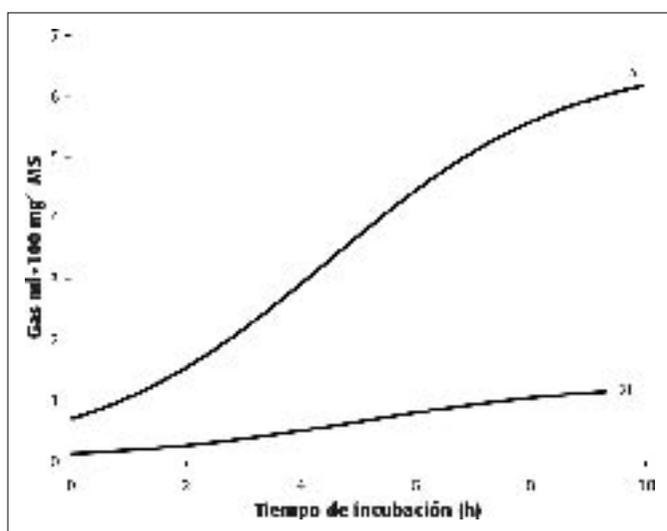
El contenido y la degradabilidad de las diferentes fracciones de carbohidratos varían entre forrajes, probablemente como respuesta a factores de manejo y al



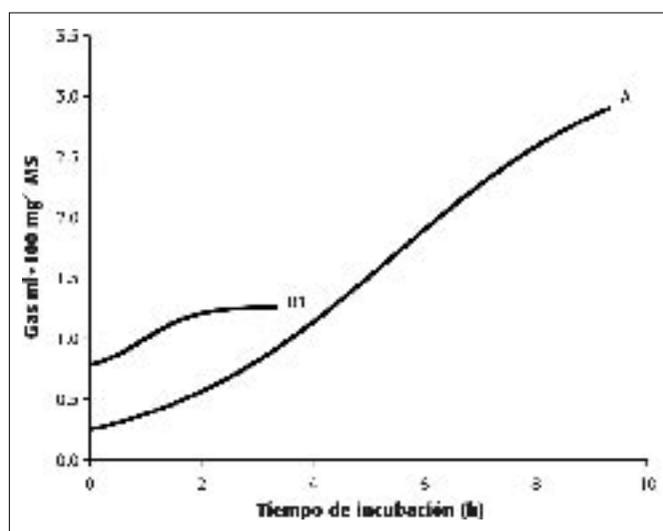
**Figura 8.** Curvas de producción de gas en las fracciones: A (azúcares, ácidos orgánicos); B1 (almidones y pectinas) de alfalfa. Cada punto representa la media de tres repeticiones.



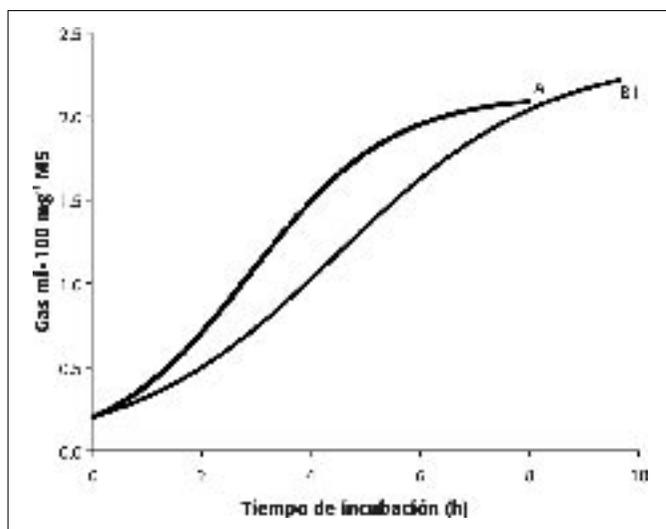
**Figura 9.** Curvas de producción de gas en las fracciones A y B1 de *D. aristatum*. Cada punto representa la media de cuatro repeticiones.



**Figura 10.** Curvas de producción de gas en las fracciones A y B1 de *B. decumbens*. Cada punto representa la media de cuatro repeticiones.



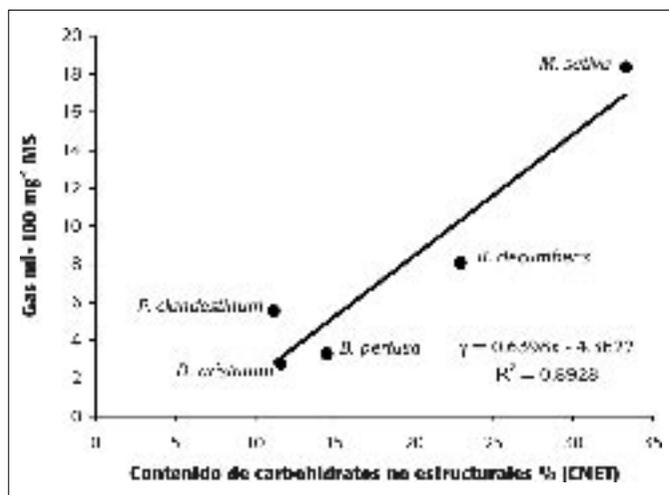
**Figura 11.** Curvas de producción de gas en las fracciones A y B1 de *B. pertusa*. Cada punto representa la media de cuatro repeticiones.



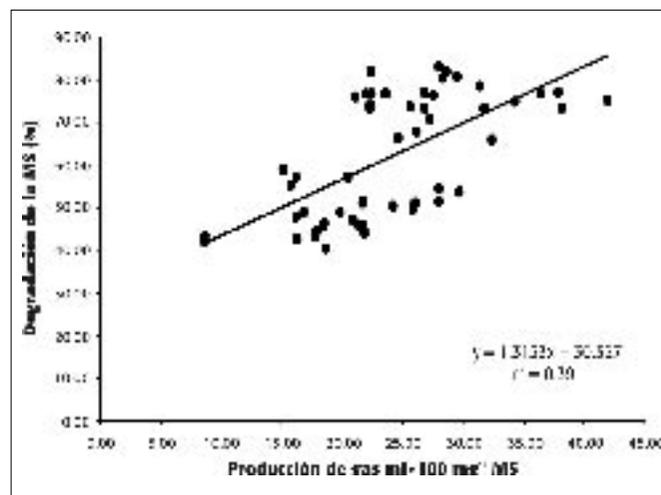
**Figura 12.** Curvas de producción de gas en las fracciones A y B1 de *P. clandestinum*. Cada punto representa la media de cuatro repeticiones.

grado de madurez de la planta, como lo sugieren los datos de producción de gas de alfalfa, Colosuana y Angleton en el presente estudio, que provenían de plantas maduras. Se recomienda para futuros estudios, que se explore el contenido de metabolitos secundarios, tanto en gramíneas como en leguminosas, antes de iniciar las incubaciones *in vitro*. Este problema se manifestó en los pastos Angleton y Colosuana, en donde el RIE tuvo menor producción de gas que el FDN.

Las dificultades para encontrar un ajuste satisfactorio de los datos derivados de la sustracción de curvas para los carbohidratos solubles de las cuatro gramíneas puede explicarse por la acumulación de errores durante el procesamiento de las muestras lo cual, según Campos *et al.* (2004), está de acuerdo con Schofield y



**Figura 13.** Relación entre la producción de gas y el contenido de carbohidratos no estructurales en cuatro gramíneas tropicales y una leguminosa templada. El valor del gas producido es la suma del gas de las fracciones A y B1, determinado por sustracción de curvas.



**Figura 14.** Relación entre la producción máxima de gas (parámetro a) en todas las fracciones de los cinco 5 forrajes y la degradación final a las 48 horas de incubación *in vitro* de las tres fracciones: ME, RIE, FDN. (R = 0.624, n = 55).

**Tabla 5.** Prueba de presencia de saponinas en los forrajes estudiados, mediante los índices de espuma y hemólisis, comparados con el patrón de quilaya.

Forraje incubado	Concentración %	Índice espuma	Índice hemólisis
<i>Pennisetum clandestinum</i> (Kikuyo)	1	100	200
<i>Brachiaria decumbens</i> (Braquiaria)	1	500	500
<i>Bothriochloa pertusa</i> (Colosuana)	1	333	***
<i>Dichantium aristatum</i> (Angleton)	1	125	***
<i>Medicago sativa</i> (Alfalfa)	1	250	200

Pell (1995) en cuanto al proceso de preparación de la fibra detergente neutra (FDN), proceso que también extrae compuestos fenólicos que inhiben la digestión microbial y favorecen la proliferación bacteriana durante la fermentación de la fibra. Esto es especialmente importante en la generación de las curvas para las fracciones A y B1, porque el residuo de la extracción etanólica sí puede contener estos compuestos inhibidores microbiales. Por otro lado, se hizo evidente el bajo contenido de carbohidratos solubles en las gramíneas tropicales, especialmente en estados maduros y en épocas de sequía, lo que hace que su contribución energética a la fermentación ruminal sea baja.

La metodología utilizada presenta posibilidades amplias en el estudio de la dinámica de fermentación microbial de forrajes y otros alimentos comúnmente utilizados en la producción bovina, ampliando el conocimiento sobre las características del comportamiento dinámico de los forrajes en el rumen y su potencial energético. La metodología de sustracción de curvas propuesta

por Schofield y Pell (1995b) ofrece la posibilidad de estudiar la cinética de degradación de los carbohidratos solubles, que por los métodos gravimétricos tradicionales no es posible realizar, constituyéndose en una herramienta útil en la definición de las fracciones de carbohidratos para ser usadas en los modelos nutricionales para rumiantes (Hall *et al.*, 1998). Sin embargo, se presentan algunas dificultades de tipo matemático para su análisis.

**AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al Dr. Tito Efraín Díaz Muñoz por su apoyo en la ejecución de este proyecto; al Dr. Rolando Barahona Resales por su ayuda en la revisión de este manuscrito; al Dr. Denis O. Molina por su asesoría en cuanto al análisis del modelo a implementar para las curvas de producción de gas; al ingeniero Edgar Benítez por su asesoría en los análisis estadísticos; a Doris Montañés y a Alipio Loaiza por su trabajo en los análisis químicos de muestras. A los Profesores Alice N. Pell, Peter Schofield

y Robert W. Blake por su gran ayuda en la construcción del sistema y la implementación de esta técnica en Colombia.

**BIBLIOGRAFÍA**

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

**Calderón, E. 1963.** Guía para el análisis de plantas y notas prácticas sobre fitoquímica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

**Campos, F.P., A.A.M., Sampaio, M.L.V. Bose, P.F. Vieira y P. Sarmiento, 2004.** Evaluation of *in vitro* gas production of roughages and their mixtures using the curve subtraction method. Animal Feed Sci. and Technol. 116:161-172.

**Doane, P.H., A.N. Pell y P. Schofield, 1997.** The effect of preservation method on the neutral detergent soluble fraction of forages. J. Anim. Sci. 75:1140-1148.

**Guada J.A. 1996.** Características del sistema de Cornell (CNCPS) como modelo de valoración proteica y energética para rumiantes. XII Curso de Especialización FEDNA, Madrid 7 y 8 de noviembre.

**Fox, D.G., Tylutki, T.P., Tedeschi, L.O., Van Amburgh, M.E., Chase, L.E., Pell, A.N., Overton, T.R. 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. 9<sup>th</sup> Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium. Gainesville (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.

**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).

**Makkar, H.P.S. 2002.** Application of the *in vitro* gas method in the evaluation of feed resources, and enhancement of nutritional value of tannin-rich tree/browse leaves and agro-industrial by-products. IAEA en: [http://www.iaea.org/programmes/nafa/d3/public/d3\\_pbl\\_6.html](http://www.iaea.org/programmes/nafa/d3/public/d3_pbl_6.html) Consultado en octubre de 2004.

**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*, 28: 7-55.

**Mertens, D.R. 1993.** Rate and extent of digestion. En: J.M. Forbes and J. France, (eds.). *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism.* CAB International Publishing, Oxford, U.K. pp 13-50.

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

**Olesek, W. A. 2002.** Chromatography determination of plants saponins. Review. *Journal of Chromatography.* 927: 147-162.

**Pedraza, R.M. 1988.** Use of *in vitro* gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. Thesis, The University of Aberdeen, Scotland, UK.

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

**Pell, A.N., P. Schofield, y W.C. Stone. 1993.** Rates of digestion measured *in vitro* with computers. *Cornell Nutr. Conf. for Feed Manufacturers.* pp. 74-81.

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

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

**Preston, T.R. y R.A. Leng. 1986.** Matching livestock systems to available feed resources. Addis Ababa, ILCA.

**Pulido, J.I., M. Romero, O.A. Duarte, y otros. 2000.** Atlas de los sistemas de producción del trópico bajo colombiano. Plan de Modernización Tecnológica de la ganadería Bovina Colombiana, 2ª edición, CORPOICA, MADR, Colciencias, Fedegán. 44p.

**Robinson, P.H. y G. Getachew. 2002.** A practical gas production technique to determine the nutritive value of forages. The UC Davis Approach. CE-Cooperative Extension, National Forage Testing Association Annual Meeting. Des Moines, IA. pp. 1-8.

**Santos, A. 2004.** Perfil cromatográfico y evaluación de la actividad antiprotozoaria de las saponinas de los frutos de *Sapindus saponaria* y *Pithecellobium samán*. Tesis de pregrado, Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá (Colombia).

**Sherrod, P. 2003.** NL/REG, NonLinear Regression Analysis Program. Version 5.2. Users Manual.

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

**Schofield, P. and A.N. Pell. 1995a.** Validity of using accumulated gas pressure readings to measure forage digestion *in vitro*: a comparison involving three forages. *J. Dairy. Sci.* 78: 2230-2238.

**Schofield P. and A.N. Pell. 1995b.** Measurements and kinetic analysis of the neutral detergent-soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. *J. Animal Sci.* 73: 3445-3463

**Schofield P., R.E. Pitt and A.N. Pell. 1994.** Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. *J. Animal Sci.* 72 : 2980-2991.

**Stefanon, B., A.N. Pell, y P. Schofield. 1996.** Effect of maturity on digestion kinetics of water-soluble and water-insoluble fractions of alfalfa and brome hay. *J. Anim. Sci.* 74:1104-1115.

**Smith, L.W., H.K. Goering, D.R. Waldo, y C.H. Gordon. 1971.** *In vitro* digestion rate of forage cell wall components. *J. Dairy Sci.* 55:1140.

**Tedeschi, L.O., D.G. Fox, A.N. Pell, D.P. Duarte y C. Boin. 2002.** Development and evaluation of a tropical feed library for the Cornell Net Carbohydrate and Protein System model. *Scientia Agricola* 59(1): 1-18.

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

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

**Van Soest, P., M. E. Van Amburgh, L. O. Tedeschi, 2000.** Rumen balance and rates of fiber digestion. *Proceedings of Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers.* Rochester, N. Y. pp.150-166.