

Degradabilidad potencial de una alfalfa seleccionada por menor desaparición inicial en el rumen

Potential degradability of an alfalfa selected for lower initial ruminal disappearance

Bernáldez, M. L.¹; Martínez Ferrer, J.²; Basigalup, D.²; Alomar, D.¹ & Brunetti, M. A.²

¹ Instituto de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias y Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. E-mail: mbernard@puc.cl

² Área de Producción Animal, Estación Experimental Agropecuaria Manfredi, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Manfredi, Córdoba, Argentina.

RESUMEN

Se realizó un ensayo con 3 períodos experimentales en los que se determinó la degradabilidad potencial (72 h) y se describió la cinética de la degradación de un cultivar de alfalfa seleccionado por menor desaparición inicial en el rumen (4 h), denominado ProINTA Carmina (Carmina) y un cultivar comercial Bárbara SP INTA (Bárbara) usado como testigo. Carmina posee al menos 22,67% menos DIR que la población original. Las comparaciones entre cultivares se llevaron a cabo usando 4 novillos fistulados en condiciones de pastoreo, para lo cual cada cultivar fue implantado en dos parcelas experimentales. Las variables determinadas en Carmina con los animales en pastoreo fueron comparadas con las obtenidas simultáneamente en dos novillos fistulados alimentados con dieta estándar a corral (heno de alfalfa y grano de maíz). No se encontraron diferencias significativas para degradabilidad potencial (72 h) ni para la dinámica de la degradación entre los cultivares con animales en pastoreo; las variables estudiadas tampoco difirieron para Carmina al evaluarla con distintas dietas suministradas a los animales donantes. El proceso de selección por menor DIR no afectó la degradabilidad potencial ni la cinética de la degradación. La dieta suministrada a los animales donantes no produjo cambios en degradabilidad potencial y en la cinética de la degradación estimadas para Carmina.

Palabras clave: degradación ruminal, cultivar de alfalfa, dieta.

ABSTRACT

To compare the potential (72 h) degradability (PD) and the kinetics of disappearance (KD) of forage from an alfalfa cultivar selected for lower initial (4 h) rate of disappearance (IRD) (cv. ProINTA Carmina) and from a commercial check (cv. Barbara SP INTA), a grazing trial including three experimental periods was conducted. ProINTA Carmina was reported to have 22.67% lower IRD than the original breeding population from which it was derived. Every cultivar was planted in two experimental plots and grazed by four fistulated steers. PD and KD from ProINTA Carmina were also compared to the PD and KD from a feeding lot diet based on alfalfa hay and corn grain. No differences were detected for any of the studied variables. It was concluded that the selection for lower IRD in the development of ProINTA Carmina did not affect neither the PD nor the KD. In addition, none of the variables were affected by the diet used in this study.

Key words: ruminal degradation, alfalfa cultivar, diet.

INTRODUCCIÓN

Las células del mesófilo de leguminosas con alto riesgo de meteorismo son más susceptibles a la ruptura que las de aquellas leguminosas con bajo potencial meteorizante, este descubrimiento es la base de la Teoría de la Ruptura Celular (Howarth et al., 1978) que sugiere que la pronta ruptura de las células del mesófilo del forraje ingerido por el animal, y la consecuente liberación al rumen del contenido intracelular, donde se encuentran estos compuestos espumógenos junto a carbohidratos rápidamente fermentecibles, son eventos ineludibles para la ocurrencia de meteorismo (Fay et al., 1980). Trabajos posteriores determinaron que las leguminosas con elevado potencial meteorizante poseen una mayor degradabilidad inicial de sus hojas en el rumen (DIR) que leguminosas de bajo riesgo, y postularon que una reducción de 25 a 30% en la desaparición inicial de la materia seca en el rumen (DIR), a 6 u 8 horas de la digestión es requerida para reducir el riesgo de meteorismo (Howarth et al., 1982).

En 1991, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA) inició un programa de mejoramiento de alfalfa para lograr un cultivar con menor riesgo meteorizante basado en la selección *in situ* por una menor DIR. Se llevaron a cabo tres ciclos de selección fenotípica y genotípica con prueba de progenie (policruza) en un proceso recurrente sobre una población de alfalfa conformada por 4 cultivares (Basigalup et al., 2003). Para seleccionar la variable DIR se utilizó la metodología *in situ* mediante la técnica

de la "bolsitas de nylon modificada" (Goplen et al., 1993) con algunas modificaciones descritas por Basigalup et al. (2003). Dos ciclos de selección fueron efectivos para reducir un 22,7% la DIR de la población experimental en relación a la población original (64,42% versus 49,81%). En el tercer ciclo de selección se obtuvo el cultivar denominado ProINTA Carmina (2001). ProINTA Carmina fue evaluada con bovinos en condiciones de pastoreo a fin de estimar su potencial meteorizante, demostrando una menor incidencia de meteorismo en animales pastoreando ProINTA Carmina en relación con animales pastoreando un cultivar comercial de amplia difusión en Argentina (Bernáldez et al., 2007).

El presente trabajo tiene como objetivos: 1) determinar si la selección por menor DIR del tercio superior del forraje afectó la degradabilidad potencial y la cinética de la degradación en el rumen del forraje, y 2) examinar si el uso de diferentes dietas base durante las determinaciones de la degradabilidad potencial y la cinética de la degradación pueden afectar la estimación de estas dos variables.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un trabajo para estimar si la degradabilidad potencial (a 72h) y la cinética de la degradación de ProINTA Carmina (Carmina), un cultivar de alfalfa seleccionado por menor DIR (a 4h) en el tercio superior del forraje, han sido afectadas por el proceso de selección. Para tal fin, se utilizó como testigo el cultivar de alfalfa Bárbara SP INTA (Bárbara) de amplia difusión en Argentina y que ha sido mejorado por caracteres agronómicos. Ambos cultivares tienen un período de latencia invernal extremadamente corto (grado de reposo invernal: 8). Simultáneamente se determinó la degradabilidad potencial y la cinética de la degradación de Carmina ofreciendo dos diferentes dietas a los animales donantes. Una dieta consistió en pastoreo de alfalfa (PA), y la otra estuvo compuesta por heno de alfalfa y grano de maíz molido (HM) a razón de 0,6gMS kgPV⁻¹, que fue la dieta utilizada durante el proceso de selección por menor DIR.

Las determinaciones de degradabilidad ruminal se llevaron a cabo con la técnica *in situ* (Mehrez & Ørskov, 1977) en tres períodos experimentales (P1: abril de 2004, P2: diciembre de 2004 y P3: enero de 2005). Se utilizaron 8 novillos fistulados con cánula de rumen permanente, cuyo peso vivo al iniciar y finalizar el ensayo fue 211 y 480kg, respectivamente. Cuatro novillos recibieron la dieta PA con alta asignación forrajera ($\geq 40\text{gMS kgPV d}^{-1}$) ingresando a la parcela en estado vegetativo con un rebrote de corona de 5cm de altura en el P1, y en botón tardío-inicio de floración en el P2 y P3. Los otros dos recibieron la dieta HM a corral. Ambas dietas se mantuvieron desde un mes antes del P1 hasta que finalizó el P3.

El forraje incubado fue cortado con tijera a 5cm del suelo, en el mismo estado fenológico descrito para las parcelas en pastoreo. Seguidamente se fragmentó a 2cm con guillotina para simular la masticación y se llenaron las bolsitas. El tiempo transcurrido desde el corte del forraje hasta su incubación fue máximo 12 horas; el material se manipuló en un ambiente a 12°C y se conservó a 4°C. Se prepararon bolsitas para la 0 y 3h por duplicados, para 9 y 18h por triplicados, y para 36 y 72h por cuadruplicados. Se incubaron muestras por 3, 9, 18, 36 y 72 horas y blancos por 3, 18 y 72 horas para corregir por contaminación microbiana. Las bolsitas se colocaron dentro de una bolsa de red con una plomada en su interior para asegurar su ubicación en el saco ventral del rumen. A fin de expresar el contenido de las bolsitas previo a la incubación en términos de MS, se tomaron muestras durante la operación de llenado, se secaron en estufa a 100°C hasta peso constante para determinar el contenido de MS.

Las bolsitas de la hora cero no se incubaron y fueron lavadas manualmente durante 5 minutos con agua corriente de red. Al finalizar la incubación todas las bolsitas, incluidas las de hora cero, se lavaron varias veces en un lavarropas eléctrico con agua corriente de red hasta que el agua salió incolora. Las bolsas lavadas fueron secadas a 55°C en estufa con aire forzado hasta peso constante, y luego se pesaron para estimar la desaparición de materia seca (MS) en el rumen.

Con el procedimiento no lineal (NLIN) del SAS versión 9 y el método Marquardt (SAS, 2003) se estimaron los parámetros de la ecuación matemática que describe la cinética de la degradación $D = a + b(1 - \exp^{-ct})$ (Ørskov & McDonald, 1979), donde D = degradabilidad a tiempo t, t = tiempo de incubación, a = representa el sustrato que es removido de la bolsita mediante el lavado a tiempo cero de incubación (%); b = representa el sustrato insoluble pero potencialmente degradable (%), y c = tasa fraccional de desaparición de b (h⁻¹).

La degradabilidad potencial y los parámetros estimados de la cinética de la degradación, tanto en la comparación entre cultivares como para la comparación entre dietas, se analizaron con un modelo de ANAVA de bloques generalizados completos al azar con dos repeticiones (animales) por cada uno de los 3 períodos experimentales. Todas las pruebas de hipótesis se realizaron con un nivel de significación del 10%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias significativas para degradabilidad potencial (72 horas) entre los cultivares al evaluarla en animales en pastoreo, ni tampoco para Carmina al evaluarla suministrando distintas

dietas a los animales donantes (Tablas 1 y 2). Esto indicaría que la selección por menor DIR no afectó el comportamiento del forraje cuando es evaluado a mayor extensión de la digestión ruminal, en ambientes ruminales típicos de dietas de pasturas de alta calidad.

La dieta es un importante determinante del ecosistema y del metabolismo ruminal y por lo tanto puede afectar la digestión del forraje *in situ* e *in vitro* (Martínez Ferrer et al., 2006) ya que inóculos provenientes de diversas dietas pueden presentar distintos potenciales fermentativos (Min et al., 2007). La importancia de una adecuada representatividad y actividad microbiana para metodologías *in situ* (Huntington & Givens, 1995) e *in vitro* (Mould et al., 2005; Rymer et al., 2005) es requisito indispensable para una correcta degradación/fermentación. Por los resultados aquí obtenidos pareciera que ambas dietas cubrieron dichos requisitos, o al menos los inóculos degradaron el material en estudio de forma muy similar.

En el presente estudio, al retirar las bolsitas incubadas en animales recibiendo la dieta HM, se observó la presencia de partículas muy finas (*slime*) sobre la superficie de las mismas. Sin embargo, debido a la acción abrasiva sobre la superficie de la bolsita de la fibra larga del heno de alfalfa presente en la dieta, es posible que éstas finas partículas encontradas no hayan bloqueado los poros de la bolsita, y por lo tanto la degradabilidad no haya sido afectada por la dieta HM. Éste efecto físico de las dietas ya ha sido estudiado por varios autores y resumido por Huntington & Givens (1995).

Los parámetros de la ecuación que describen la dinámica de la degradación fueron estimados con un bajo error estándar (2,619; 3,314 y 0,014 promedio para a(%), b(%) y c(%/h) respectivamente). Los parámetros de la dinámica de la degradación no difirieron al comparar los cultivares (Tabla 1). El parámetro "a" que representa la fracción soluble del forraje presenta diferencias significativas al comparar PA con HM (Tabla 2). Sin embargo es posible que la diferencia en este parámetro esté asociada a errores metodológicos y no sean causa de la dieta debido a que "a" se estima como el material perdido durante el lavado de las bolsitas a hora cero sin incubación ruminal. Los valores de la fracción soluble perdidos durante el lavado reflejan el mismo patrón (25,2 y 19,4% para PA y HM respectivamente), y explicarían dichas diferencias en el parámetro "a" estimado.

En la Figura 1 se puede observar la superposición entre las curvas de dinámica de la degradación en pastoreo para Carmina y Bárbara, y aquellas para Carmina en ambas dietas evaluadas (PA y HM). Los resultados del presente trabajo son consistentes con valores estimados para la degradación de alfalfa fresca descriptos por Elizalde et al. (1999) para un amplio rango de estados fenológicos de alfalfa.

Tabla 1. Parámetros de la dinámica de desaparición ruminal y degradabilidad potencial *in situ* de alfalfas seleccionadas o no por menor DIR utilizando animales en pastoreo (valores promedio de los cultivares).

Variables†	Carmina Bárbara		Valor p	
			Cv	Cv×P
A	23,35	23,41	0,9317	0,3865
B	55,41	55,76	0,8032	0,298
c (h ⁻¹)	0,092	0,087	0,7598	0,9434
DP	78,60	79,00	0,7773	0,6116

†a(%), b(%) y c(%/h) son parámetros de la dinámica de la degradación ruminal y DP es degradabilidad potencial (%).

Tabla 2. Parámetros de la dinámica de desaparición ruminal y degradabilidad potencial *in situ* para Carmina incubada en animales recibiendo diferentes dietas (valores promedio de las dietas).

Variables†	PA††	HM	Valor p	
			Dieta	Dieta×P
A	23,35	20,26	0,0662	0,5528
B	55,41	57,37	0,4232	0,6677
c (h ⁻¹)	0,092	0,089	0,8109	0,9811
DP	78,60	77,46	0,4307	0,2333

†a(%), b(%) y c(%/h) son parámetros de la dinámica de la degradación ruminal y DP es degradabilidad potencial (%). †† PA es pastoreo de alfalfa y HM es dieta estándar de heno de alfalfa y grano de maíz.

CONCLUSIÓN

Los resultados indican que el proceso de selección por menor DIR no afectó el comportamiento del forraje cuando es evaluado a mayor extensión de la digestión ruminal, ya sea en su degradabilidad potencial como en la dinámica de la degradación.

La degradación del material seleccionado por menor DIR no fue afectada en su extensión y/o patrón al ser evaluada con animales donantes recibiendo diferentes dietas, una similar a la utilizada durante el proceso de mejoramiento y la otra representando la situación de uso real.

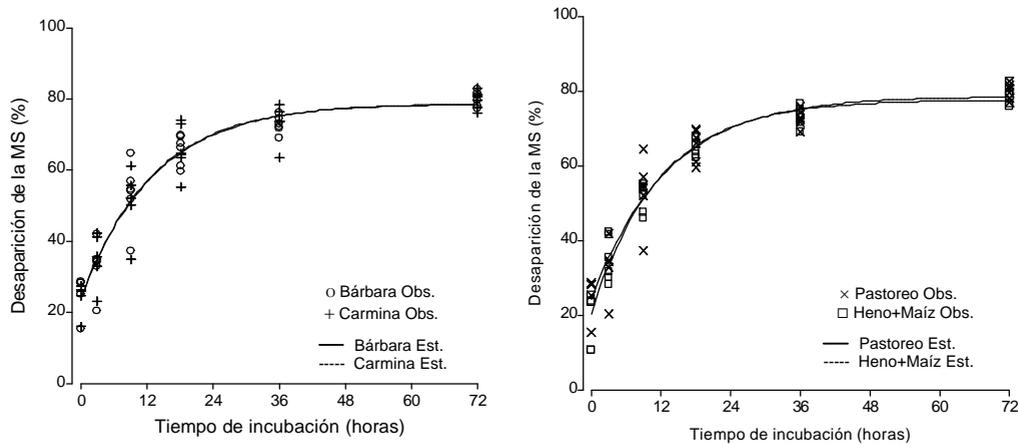


Figura 1. Degradación ruminal de la MS de los cultivares evaluados (izquierda) y de Carmina según dieta recibida por los animales donantes (derecha). Valores observados *in situ* y estimados a partir del modelo matemático propuesto por Ørskov & McDonald (1979).

Literatura Citada

- Basigalup, D. H.; C. V. Castell and C. D. Giaveno. 2003. Response to selection in the development of a bloat tolerant alfalfa in Argentina. *J. of Gen. & Breed.* 57: 31-38.
- Bernaldez, M. L.; P. Davies, D. H. Basigalup, J. Martínez Ferrer, D. Méndez, M. Balzarini y D. Alomar. 2007. Evaluación del potencial meteorizante de un cultivar de alfalfa en dos localidades. *Revista Argentina de Producción Animal.* (en prensa).
- Elizalde J. C.; N. R. Merchen and D. B. Faulkner. 1999. *In situ* dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. *J. Dairy Sci.* 82:1978-1990.
- Howarth, R. E.; B. P. Goplen, A. C. Fesser & S. A. Brandt. 1978. A possible role for leaf cell rupture in legume pasture bloat. *Crop Sci.* 18:129-133.
- Howarth, R. E.; B. P. Goplen, S. A. Brandt and K-J. Cheng. 1982. Disruption of leaf tissues by rumen microorganisms: an approach to breeding bloat-safe forage legumes. *Crop Sci.* 22:564-568.
- Huntington, J. A. and D. I. Givens. 1995. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds: A review. *Nutrition Abstracts and Reviews (Series B)* 65(2):63-93.
- Fay, J. P.; K. J. Cheng and M. R. Hanna. 1980. *In vitro* digestion of bloat-safe and bloat-causing legumes by rumen microorganisms: Gas and foam production. *J. Dairy Sci.* 63:1273-1281.
- Goplen, B. P.; R. E. Howarth and G. L. Lees. 1993. Selection of alfalfa for a lower initial rate of digestion and corresponding changes in the epidermal and mesophyll cell wall thickness. *Can. J. Plant Sci.* 73:111-122.
- Martínez Ferrer, J.; M. A. Brunetti, D. Molinari y A. Cora. 2006. Digestibilidad de la materia seca de alfalfa evaluada mediante diferentes métodos: efectos del procesamiento de la muestra y la fuente de inóculo. *Revista Argentina de Producción Animal.* 26(Sup.1):28-30.
- Mehrez, A. Z. & E. R. Ørskov. 1977. The use of a Dacron bag technique to determine rate of degradation of protein and energy in the rumen. *J. Agric. Sci., Camb.* 88:645-650.
- Min, B. R.; W. E. Pinchak, D. Mathews and J. D. Fulford. 2007. *In vitro* rumen fermentation and *in vivo* bloat dynamics of steers grazing winter wheat to corn oil supplementation. *Animal Feed Sci. & Tech.* 133: 192-205.
- Mould, F.L.; Kliem, K.E.; Morgan, R. and Mauricio, R.M. 2005. *In vitro* microbial inoculum: A review of its function and properties. *Animal Feed Sci. & Tech.* 123-124: 31-50.

- Rymer, C.; Huntington, J.A.; Williams, B.A. and Givens, D.I. 2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Sci. & Tech.* 123-124: 9-30.
- Ørskov, E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci., Camb.* 92:499-503.