

NOTA TÉCNICA

DIGESTIBILIDAD FECAL DE NUTRIENTES EN DIETAS CON FORRAJES TROPICALES EN CONEJOS. COMPARACIÓN ENTRE MÉTODOS DIRECTO E INDIRECTO

Duilio Nieves¹, Albeiro Barajas¹, Geovanny Delgado¹, Carlos González² y Julio Ly³

RESUMEN

El valor nutricional de alimentos no convencionales debe determinarse mediante métodos que permitan obtener resultados confiables en el menor tiempo y de la forma más económica posible. La determinación se puede realizar directa o indirectamente, y el objetivo de este trabajo fue comparar el método de colección total de heces (directo) y el de la ceniza ácido insoluble (indirecto) en la determinación de digestibilidad fecal de nutrientes en dietas con forrajes tropicales en conejos. Se utilizaron 72 conejos Nueva Zelanda x California de 45 días de edad, alimentados con dietas que contenían 30% de follaje de leucaena (*Leucaena leucocephala*), naranjillo (*Trichanthera gigantea*), morera (*Morus alba*), maní forrajero (*Arachis pintoi*) y batata (*Ipomoea batatas*). Los conejos fueron alojados individualmente en jaulas de 20 x 30 cm, y distribuidos según diseño completamente aleatorizado en seis tratamientos con 12 repeticiones. Los valores obtenidos para la digestibilidad de la materia seca (57,62 vs. 57,84 %), materia orgánica (59,97 vs. 60,21 %), energía (58,85 vs. 59,05 %), proteína cruda (71,03 vs. 71,15 %), fibra detergente neutro (35,40 vs. 35,82 %), fibra detergente ácido (17,95 vs. 18,69 %) y hemicelulosa (52,11 vs. 52,56 %) no presentaron diferencias estadísticas ($P>0,10$) entre los métodos directo e indirecto, respectivamente. Dada su sencillez y bajo costo, el método ceniza ácido insoluble constituye un procedimiento práctico, confiable y aplicable para estudios de valoración nutricional de alimentos forrajeros tropicales para conejos.

Palabras clave adicionales: Ceniza ácido insoluble, leucaena, naranjillo, morera, maní forrajero, batata

ABSTRACT

Faecal digestibility of diets with tropical forages in rabbits. Comparison between direct and indirect methods

A study was carried out to compare the nutrient faecal digestibility in diets with tropical forages in fattening rabbits, determined by total collection (direct) and acid-insoluble ash (indirect) methods. Seventy two new Zealand x California rabbits of 45 days of age, fed with diets that contained 30 % of leucaena (*Leucaena leucocephala*), trichanthera (*Trichanthera gigantea*), mulberry (*Morus alba*), peanut forage (*Arachis pintoi*) and sweet potato (*Ipomoea batatas*) foliage were used. Rabbits were housed individually in cages of 20 x 30 cm, and distributed according to a completely randomized design with six treatments and 12 repetitions. The values obtained for dry matter (57.62 vs. 57.84 %), organic matter (59.97 vs. 60.21 %), energy (58.85 vs. 59.05 %), raw protein (71.03 vs. 71.15 %), neutral detergent fiber (35.40 vs. 35.82 %), acid detergent fiber (17.95 vs. 18.69 %) and hemicellulose digestibility (52.11 vs. 52.56 %) did not show statistical differences ($P>0.10$) between direct and indirect methods, respectively. Due to its simplicity and low cost, the acid-insoluble ash method constitutes a practical, reliable and applicable procedure for nutritional valuation of tropical forages for rabbits.

Additional key words: Acid-insoluble ash, leucaena, trichanthera, mulberry, peanut forage, sweet potato

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de formas de producción adecuadas a condiciones de países tropicales, ha sido tema de interés desde hace varios años. Los

esquemas de alimentación de conejos, tradicionalmente se han basado en el uso de ingredientes dietéticos de origen vegetal, fundamentalmente soya, cereales y alfalfa, cultivos que pueden ser superados desde el punto

Recibido: Junio 19, 2007

Aceptado: Febrero 28, 2008

¹ Programa Producción Animal, Universidad Ezequiel Zamora. Guanare 3323, Venezuela. e-mail: dnieves@cantv.net

² Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela

³ Instituto Investigaciones Porcinas. PO Box 1, Punta Brava, La Habana, Cuba. e-mail: julioly@utafoundation.org

de vista agronómico por otros mejor adaptados al medio y que no son requeridos para la alimentación humana. El estudio y evaluación de nuevos ingredientes dietéticos para conejos en Venezuela es importante porque la alimentación constituye alrededor del 70 % del costo de producción.

La determinación del valor nutricional de alimentos no convencionales debe realizarse mediante la utilización de métodos que permitan obtener el máximo de información acerca de las características nutritivas en el menor tiempo y de la forma más económica posible. Por lo tanto, los diferentes métodos de evaluación deben aplicarse en una secuencia tal, que permita el avance en el conocimiento del valor nutricional del alimento a través del uso de técnicas poco complejas (Mederos et al., 1995).

La digestibilidad *in vivo* de un alimento se puede medir directa e indirectamente. En la forma directa se registra exactamente el consumo de alimento y la excreción fecal de un animal sometido a un tratamiento dietético, en un período de tiempo dado. Como desventaja de este método, puede existir contaminación entre excretas y orina; además el confinamiento de los animales reduce el tono muscular y probablemente al disminuir el tránsito de digesta, se sobreestima la digestibilidad con respecto a los animales alojados en corrales. La forma indirecta para medir la digestibilidad no requiere cuantificar el consumo ni la excreción fecal, se puede utilizar un marcador que se agrega o que está incluido dentro del alimento en forma natural (Ly, 1999).

Diversos marcadores externos como el óxido de cromo, óxido de titanio y elementos tierras raras, e internos como fibra ácido detergente indigestible, lignina indigestible y ceniza ácido insoluble han sido evaluados. En la práctica suelen utilizarse en los experimentos de digestibilidad con cerdos, el óxido crómico, como el más común de los marcadores externos, y la ceniza ácido insoluble como la más usual de los marcadores internos.

Entre las ventajas más significativas en el uso del método del marcador para medir la digestibilidad resalta que no requiere instalaciones especiales ni alojamiento específico para el animal. Por otra parte, las extracciones rectales de excretas pueden practicarse en los animales que se utilizan en las pruebas de

comportamiento, lo que a su vez facilita la correlación entre los índices digestivos y la respuesta animal medida a través de ganancia diaria de peso y eficiencia alimenticia, entre otros. Además, elimina la exigencia de recolección fecal cuantitativa, que representa un problema en el método directo.

Los procedimientos usados en los ensayos de digestibilidad *in vivo* con conejos han sido usualmente diferentes en cuanto a tamaño del experimento, edad de los animales, período de adaptación o colección, procedimiento de muestreo y determinación de materia seca en heces y alimento. Con base en esta premisa, Pérez et al. (1995) validaron un método que permitió evaluar datos de distinta procedencia y propusieron un procedimiento sencillo que genera resultados de alta repetibilidad. La técnica plantea trabajar con conejos de edad comprendida entre 46 y 56 días; además sugiere una duración mínima pre experimental de siete días con un período de colección de heces de cuatro días.

Estudios dirigidos a evaluar la influencia del método de determinación de índices digestivos han sido realizados por diferentes investigadores en distintas especies animales. En este sentido, Sales y Janssens (2003) al confrontar 45 trabajos realizados en diversos tipos de alimentos y animales con el objetivo de comparar la digestibilidad rectal de nutrientes obtenida con los métodos de ceniza ácido insoluble y de recolección total de heces, encontraron que en la mayoría de los casos los resultados alcanzados por ambos métodos fueron similares; en nueve de ellos el método de ceniza ácido insoluble subestimó la digestibilidad y en diez hubo sobreestimación del resultado.

El método ceniza ácido insoluble ha sido usado desde hace algunos años para determinar digestibilidad fecal de nutrientes en cerdos (Ly et al., 1998) y digestibilidad ileal de nutrientes en patos (Martin et al., 1998), pollos (Ravindran et al., 1999) y cerdos (Fan y Sauer, 2002). En conejos, el método ha sido utilizado recientemente por Samkol et al. (2006).

Con base a estos antecedentes, se planteó comparar los métodos directo (colección total de heces) e indirecto (ceniza ácido insoluble) en la determinación de digestibilidad fecal de nutrientes de follajes tropicales en conejos de engorde.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 72 conejos Nueva Zelanda x California de 45 días de edad, alimentados con dietas que contenían 30 % de follaje de *L. leucocephala*, *T. gigantea*, *M. alba*, *A. pinto* ó *I. batatas*. Se emplearon seis tratamientos con 12 repeticiones en cada uno.

Los follajes arbóreos se cosecharon a los 45 días después de corte, mientras que el follaje del maní forrajero fue recolectado a 60 días y el de batata se colectó al momento de la cosecha del tubérculo (120 días). Este material se secó mediante exposición al sol durante 3 días y fue triturado utilizando molino de martillo con criba de 3 mm. Las mezclas fueron procesadas con equipo de pelletización de laboratorio California Pellets Mill, con capacidad de 50 kg·h⁻¹ y tornillo granulador de 3 mm de diámetro.

Se formuló una dieta basal de acuerdo con los requerimientos nutricionales indicados por De Blas y Wiseman (2003), la cual contenía heno de pasto estrella (*Cynodon nlenfuensis*) como única fuente de fibra. Como follaje de prueba se utilizó leucaena, naranjillo, morera, arachis y batata, en variable composición (Cuadro 1). En un estudio previo, Nieves et al. (2005) encontró buena aceptabilidad de varios de estos follajes tropicales por parte de los conejos. Las dietas se

suministraron en forma de pellets (0,3 cm de diámetro) y se ofrecieron *ad libitum*.

Los conejos se alojaron en jaulas de metabolismo que permitían separación de heces y orina, ubicadas en galpón con paredes laterales de 1 m de altura. Se distribuyeron doce conejos al azar en cada una de las dietas. El período de adaptación a las dietas fue siete días y se colectó la excreción total de heces durante cuatro días consecutivos, paralelamente se midió el consumo de alimento, de acuerdo con la metodología propuesta por Pérez et al. (1995).

Las heces recolectadas diariamente se almacenaron a -21 °C, al finalizar el período de colección, se obtuvo una muestra compuesta que se secó a 65 °C durante 48 horas. Los análisis químicos en alimento y heces se condujeron según las técnicas reconocidas (AOAC, 1990) para materia seca, proteína bruta (Nx6,25), extracto etéreo, fibra cruda y ceniza. La energía bruta se determinó utilizando un calorímetro adiabático Parr (modelo 1341EB). El fraccionamiento de la pared celular (fibra detergente ácido, FDA, y fibra detergente neutro, FDN) se llevó a cabo en los follajes y dietas según el procedimiento indicado por Van Soest et al. (1991). La hemicelulosa se definió como la diferencia entre el contenido de FDN y FDA.

Cuadro 1. Composición de ingredientes de dietas con follajes tropicales utilizadas en la prueba de digestibilidad fecal

Ingredientes	Testigo	Leucaena	Naranjillo	Morera	Arachis	Batata
Heno estrella	30,00	23,33	21,54	23,73	20,52	21,92
Harina de sorgo	13,00	9,00	8,65	8,48	10,00	10,00
Pulidura de arroz	10,00	14,59	15,00	15,00	15,00	15,00
Torta de soya	22,22	15,45	16,08	15,00	16,78	15,32
Afrecho de trigo	22,30	5,00	6,00	5,00	5,00	5,00
DL metionina	0,13	0,26	0,28	0,30	0,27	0,29
Lisina	0,00	0,02	0,10	0,14	0,08	0,12
PVM	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Carbonato de Ca	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
Fosfato de Ca	1,11	1,11	1,11	1,11	1,11	1,11
Sal común	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Follaje de prueba	0,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00

PVM = Premezcla de vitaminas y minerales, (contenido/kg): acetato de retinol, 9.000 UI; colecalciferol, 1800 UI; acetato de tocoferol, 12,5 UI; menadión bisulfato de sodio, 1 mg; riboflavina, 2 mg; Zn, 50 mg; Mn, 40 mg; Cu, 25 mg; Co, 0,5 mg; Yo, 1,25 mg y colina, 250 mg.

La determinación de la ceniza ácido-insoluble en el alimento y heces se llevó a cabo por

gravimetría, después de la digestión de las muestras en HCl 4N durante 30 min, filtración e

incineración del residuo insoluble resultante (Vogtmann et al., 1975).

El cálculo de digestibilidad de nutrientes por el método directo se realizó según procedimiento reconocido para conejos (Villamide et al., 1998), con base en la siguiente ecuación:

$$CDA = [(CN-EN)/CN] \times 100$$

donde CDA es el coeficiente de digestibilidad aparente del nutriente, CN el consumo del nutriente y EN la excreción del nutriente.

El cálculo de la digestibilidad por el método indirecto se condujo, en concordancia con la ecuación indicada por Ly (1999), de la siguiente manera:

$$\text{Digestibilidad de MS (\%)} = \left(1 - \frac{XD}{XE}\right) \times 100$$

donde XD y XE representan el porcentaje del marcador en la dieta y excretas, respectivamente. En el caso de nutrientes específicos, la fórmula se modificó así:

$$\text{Digestibilidad de Nutriente N (\%)} = \left(1 - \frac{XD}{XE} \times \frac{NE}{ND}\right) \times 100$$

donde XD y XE tienen el mismo significado que en la ecuación anterior, mientras que NE y ND son el porcentaje del nutriente en excretas

y dieta en base seca, respectivamente.

El procesamiento estadístico de los datos se condujo mediante aplicación de la prueba de t para muestras independientes (n= 70) de materia seca, materia orgánica, energía bruta, proteína bruta, fibra detergente neutro, fibra detergente ácido y hemicelulosa), con la intención de comparar los valores resultantes entre ambos métodos. Se usó el software Statistix 7 para Windows para procesar los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos con cada uno de los métodos evaluados muestran tendencias y valores semejantes, aunque se aprecia menor variabilidad de los datos cuando se aplicó el método indirecto, según se indica a través del error estándar de la media (Cuadro 2). En estudios previos comparativos entre éstos dos métodos se han encontrado valores similares para digestibilidad fecal de nutrientes en cerdos y caballos (Sales y Janssens, 2003). Los resultados del presente trabajo son concordantes con esa información y pueden reforzar la validez de aplicación de este método indirecto en conejos.

Cuadro 2. Error estándar de la medición según el método de determinación de la digestibilidad fecal de nutrientes en dietas para conejos (n = 70 por cada fracción química)

Método	Materia seca	Materia orgánica	Energía bruta	Proteína cruda	FDN	FDA	Hemicelulosa
Indirecto	2,61	2,76	4,11	2,89	5,92	6,24	8,02
Directo	3,89	3,81	4,68	3,48	7,78	9,13	8,78

En el Cuadro 3 se muestran los valores obtenidos para los coeficientes de digestibilidad de nutrientes cuando se agruparon los datos de todos los tratamientos para cada fracción química, con la intención de comparar los resultados entre ambos métodos. Se destaca que no hubo diferencias ($P > 0,10$) entre los índices de digestibilidad determinados por el método de colección total o ceniza ácido insoluble. El uso de ceniza ácido-insoluble como marcador interno es aún novedoso en conejos (Samkol et al., 2006) y no se ha extendido mucho como ocurre con otras especies animales y con los marcadores externos (Sales y Janssens, 2003). Sin embargo, de acuerdo con los resultados encontrados en la presente investigación, este método puede emplearse en

estudios de digestibilidad cuando se usan follajes tropicales no convencionales para esta especie.

El uso de este tipo de ceniza como marcador externo en estudios de digestibilidad con cerdos, ha generado recuperación incompleta del indicador (Yin et al., 2003). En la práctica es difícil lograr distribución homogénea de un marcador externo en el alimento, debido a diferencias en cualidades físicas y proporción en que se deben mezclar los ingredientes. Esta situación puede causar errores en la determinación de la digestibilidad. Además, el procedimiento para fijar el marcador a la fibra y su posterior recuperación, implica fuente de error y el uso de equipos específicos que generalmente son costosos (Sales y Janssens, 2003).

Cuadro 3. Efecto del método de determinación de la digestibilidad fecal de nutrientes en dietas para conejos (n = 70 por cada fracción química)

	Método		Probabilidad (P)	Error estándar
	Directo	Indirecto		
Materia seca	57,62	57,84	0,35 ns	0,75
Materia orgánica	59,97	60,21	0,31 ns	0,77
Energía bruta	58,85	59,05	0,31 ns	0,89
Proteína cruda	71,03	71,15	0,18 ns	0,69
FDN	35,40	35,82	0,43 ns	1,37
FDA	17,95	18,69	0,46 ns	2,44
Hemicelulosa	52,11	52,56	0,37 ns	1,55

ns: no significativo para el 10 % de probabilidad ($P > 0,10$)

Resultados experimentales con el uso de ceniza ácido insoluble como marcador interno en dietas para cerdos han generado valores similares en la digestibilidad de nutrientes con respecto al método directo en dietas convencionales (Martin et al., 1998; Moughan et al., 1991) y no convencionales (Ly y Samkol, 2001; Ly et al., 2002).

Los resultados del presente estudio concuerdan con los informados anteriormente y permiten confirmar que la digestibilidad fecal de nutrientes en conejos puede determinarse indistintamente por el método de colección total o mediante el método ceniza ácido insoluble. Es decir, se puede proponer que el método ceniza ácido insoluble podría ser usado de forma alternativa para sustituir el método de colección total, como una manera confiable, económica y práctica para estimar digestibilidad de nutrientes en dietas para conejos.

Con este método se puede aplicar alojamiento más confortable, que genera mediciones más confiables sobre la productividad de los animales y está en concordancia con las actuales consideraciones sobre bienestar animal (Aparicio et al., 2005). Por otra parte, el uso de la ceniza ácido insoluble en estudios de digestibilidad es fácil y sencillo, el procedimiento de análisis no requiere de equipos y reactivos costosos, aunque exige la adquisición de elevado grado de precisión y destreza durante el filtrado.

Se puede sugerir la ampliación de la investigación sobre este método con el fin de estandarizar procedimientos tales como el tamaño de la muestra, temperatura de incineración y cantidad de agua para lavado que permitan obtener resultados de alta repetibilidad.

CONCLUSIONES

El uso del método ceniza ácido insoluble para determinar la digestibilidad fecal de nutrientes produjo similares resultados a los obtenidos mediante la aplicación del método de colección total de heces. En consecuencia, constituye un procedimiento práctico, confiable y aplicable en estudios de valoración nutricional de alimentos forrajeros tropicales para conejos.

AGRADECIMIENTO

Al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) por el financiamiento otorgado para la ejecución de este trabajo a través del Proyecto UNELLEZ PEM 2001002229: "Grupo de investigación del Programa Producción Animal de la Universidad Ezequiel Zamora UNELLEZ - Guanare."

LITERATURA CITADA

1. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. Arlington.
2. Aparicio, M., J. Vargas y L. Prieto. 2005. Consideraciones sobre bienestar animal. VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos, Libro de Memorias. Unellez, Guanare. pp 1-9.
3. De Blas, C. y J. Wiseman. 2003. The Nutrition of the Rabbits. CABI Publishing, London, UK. pp. 103-144.
4. Fan, M. y W. Sauer. 2002. Determination of

- true ileal amino acid digestibility and the endogenous amino acid outputs associated with barley samples for growing-finishing pigs by regression analysis technique. *J. Anim. Sci.* 80: 1593-1605.
5. Ly, J. 1999. Fisiología Nutricional del Cerdo. Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo. 145 p.
6. Ly, J. y P. Samkol. 2001. Nutritional evaluation of tropical leaves for pigs. *Desmanthus* (*Desmanthus virgatus*). *Livestock Research for Rural Development* 13(4). <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd13/4/>
7. Ly, J., F.J. Diéguez, R.M. Martínez y A. García. 1998. Digestion of a diet very high in fiber in Cuban Creole pigs. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 72: 397-402.
8. Ly, J., T. Chay y P. Samkol. 2002. Studies on the use of acid insoluble ash as inner marker in digestibility studies with Mong Cai pigs. *Livestock Research for Rural Development* 14(5). <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd14/5/>
9. Martin, E., J. Nolan, Z. Nitsan y D. Farrel. 1998. Strategies to improve the nutritive value of rice bran in poultry diets. IV. Effects of addition of fish meal and microbial phytase to duckling diets on bird performance and amino acid digestibility. *Brit. Poultry Sci.* 39: 612-621.
10. Mederos, C.M., J. Ly y R.M. Martínez. 1995. Metodología para la evaluación de alimentos para cerdos. *Inst. Inv. Porcinas. La Habana.* 77 p.
11. Moughan, P.J., W.C. Smith, H. Schrama y C. Smits. 1991. Chromic oxide and acid-insoluble ash as faecal markers in digestibility studies with young growing pigs. *New Zealand J. of Agricult. Res.* 34: 85-88.
12. Nieves, D., E. Rojas, O. Terán, A. Fuenmayor y C. González. 2005. Aceptabilidad de dietas con follaje de naranjillo, leucaena, morera, maní forrajero, batata y yuca en conejos de engorde. *Rev. Unellez Cien. Tec.* 23: 19-25.
13. Pérez, J., C. Cervera, E. Falcao, L. Concha, L. Maertnes, M. J. Villamide y G. Xiccato. 1995. European ring-test on *in vivo* determination of digestibility in rabbits: reproducibility of a reference method compared with individual laboratory procedures. *World Rabbit Science.* 3: 41-43.
14. Ravindran, V., L. Hew, G. Ravindran y W. Bryden. 1999. A comparison of ileal digesta and excreta analysis for the determination of amino acids digestibility in food ingredients for poultry. *Brit. Poultry Sci.* 40: 266-274.
15. Sales, J. y G.P. Janssens. 2003. Acid insoluble ash as marker in digestibility studies: a review. *J. of Anim. and Feed Sci.* 12: 383-401.
16. Samkol, P., T.R. Preston y J. Ly. 2006. Effect of increasing offer level of water spinach (*Ipomoea aquatica*) on intake, growth and digestibility coefficients of rabbits. *Livestock Research for Rural Development* 18(2): Artículo 25
17. Van Soest, P.J., J.B. Robertson y B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
18. Villamide, M.J., L. Maertens, C. De Blas y J.M. Pérez. 1998. Feed evaluation. *In: De Blas y Wiseman (eds.). The nutrition of the Rabbit.* CAB International. Wallingford. pp 89-101.
19. Vogtmann, H., H.P. Pfrtner y A.L. Prabucki. 1975. A new method of determining metabolizability of energy and digestibility of fatty acids in broiler diets. *Brit. Poult. Sci.* 16: 531-534.
20. Yin, Y.L., J.D. Mcevoy, H. Schulze y K.J. Mcken. 2003. Effects of xylanase and antibiotic addition on ileal and faecal apparent digestibilities of dietary nutrients and evaluating HCl-insoluble ash as a dietary marker in growing pigs. *J. of Anim. Sci.* 71: 95-103.