

Predicción del valor energético y proteico del heno de alfalfa

J.García^a, C.de Blas^a, L.Perez^b, C. Alvarez^c y M.Ramos^a.

^aDepartamento de Producción Animal, E.T.S.I.Agrónomos. Universidad Politécnica 28040 Madrid.

^bDepartamento de Producción animal, Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba 14005 Córdoba.

^c COREN

INTRODUCCION

El heno de alfalfa representa alrededor de la tercera parte de las materias primas utilizadas en piensos de conejos en España. Su palatabilidad y aporte en aminoácidos le hacen preferible frente a otras materias primas fibrosas. Por otra parte aporta tanto partículas de fibra soluble como indigestibles asegurando una velocidad de tránsito adecuada y una producción elevada de ácidos grasos volátiles en el ciego.

La composición química del heno de alfalfa es muy variable. Esta variación se debe a diferencias en la variedad, madurez, climatología y técnica de conservación. Los coeficientes de variación de la materia seca (MS) y proteína bruta (PB) determinados sobre 56 muestras comerciales fueron 13.6 y 14.0% (C.Alvarez, datos no publicados). Estas variaciones podrían afectar al valor nutritivo del heno de alfalfa. Se han desarrollado distintos métodos para estimar el valor energético y proteico de dietas completas de conejos basadas en la composición química (Maertens y col, 1988; de Blas y col, 1992) o técnicas in vitro (Ramos y Carabaño, 1992). Sin embargo esta información no es extrapolable a la mayoría de alimentos cuya composición química se encuentra fuera del intervalo de predicción de estas ecuaciones.

El objetivo de este trabajo fue determinar in vivo el valor nutritivo de cinco henos de alfalfa que variaban en composición química, y desarrollar métodos de predicción in vitro para los principales nutrientes.

MATERIAL Y METODOS

Dietas

Se sembraron 4.25 ha de la variedad de alfalfa "Aragón" en el Valle del Guadalquivir (Córdoba) en noviembre de 1990. En junio de 1992 se realizó el segundo corte del año,

de un total de ocho. Se efectuó en cinco estados distintos de madurez y en dos momentos del día, mañana y tarde, por cada estado. Toda la alfalfa se henificó y posteriormente se granuló. De estas diez muestras, se seleccionaron cinco con el fin de obtener la mayor variabilidad en el contenido en fibra y proteína. Estos henos fueron llamados A, B, C, D y E en orden creciente de fibra neutro detergente.

La composición química se muestra en la cuadro 1.

En los cuadros 2 y 3 se muestra la composición de los polisacáridos no amiláceos (PNA) y en aminoácidos de las dietas A, C y E respectivamente. Los cinco henos de alfalfa también se analizaron utilizando la técnica *in vitro* desarrollada por Ramos y Carabaño, 1992. Los valores obtenidos para MS, MO y PB se muestran en el Cuadro 4.

Experimento de digestibilidad

Un total de 51 gazapos machos y hembras de Neozelandés blanco x Californiano, con pesos que oscilaron entre 1.3-1.8 kg, fueron asignados al azar a las cinco dietas, a razón de ocho animales como mínimo por dieta. Los animales se alojaron en jaulas de digestibilidad que permitían la separación de heces y orina, fueron alimentados *ad libitum* durante todo el experimento y estuvieron sometidos a un periodo de 16h luz-8h oscuridad. Tras un periodo de 14-d de adaptación ala dieta se recogieron las heces durante cuatro días consecutivos y se almacenaron a -20°C .

Métodos analíticos

La FAD, LAD, N_{fad} y N_{fnd} se realizaron siguiendo el protocolo de Goering y Van Soest (1970), Robertson y Van Soest (1981) para la FND y la AOAC (1984) para la MS, cenizas, PB y FB. La energía bruta (EB) se determinó utilizando una bomba calorimétrica adiabática. El contenido en aminoácidos se determinó mediante HPLC (Cohen y col, 1989). Los azúcares neutros de los polisacáridos no amiláceos se midieron por la técnica de Harris y col (1984). Los ácidos urónicos (AU) se determinaron según el método de Blumenkratz y Asboe-Hansen (1973).

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS (1985). Las diferencias entre medias se testaron utilizando el test LSD. El análisis de regresión *stepwise* se empleó para desarrollar ecuaciones de predicción en las que se utilizaron como variables independientes los parámetros químicos e *in vitro* y como variables dependientes las digestibilidades *in vivo*.

RESULTADOS

Experimento de digestibilidad in vivo

Los coeficientes de digestibilidad aparente para la MS, MO, energía y nitrógeno de los cinco henos de alfalfa se muestran en el Cuadro 5. El consumo no fue afectado significativamente por el tipo de dieta, siendo su media 73.8 ± 11.3 g/d. Los coeficientes de variación de los valores de digestibilidad fueron de media un 6% para la MS, MO y energía, y un 3% para la PB. El tipo de dieta afectó significativamente a todas las digestibilidades estudiadas, que se redujeron linealmente con el contenido en fibra e inversamente con el contenido en proteína del heno de alfalfa ($P < 0.001$). Los valores de energía y proteína digeribles obtenidos de los contenidos en EB y PB y de las digestibilidades de la energía y la proteína fueron 9.2, 7.6, 7.5, 8.0 y 6.4 kJ/g MS y 164, 163, 150, 129 y 114 g PB digerible/kg MS para los henos de alfalfa A, B, C, D y E respectivamente.

El tipo de heno de alfalfa influyó en el contenido (Cuadro 3) y digestibilidad (Cuadro 6) de la mayor parte de aminoácidos, aunque no se encontraron diferencias significativas en la digestibilidad de la tirosina y arginina. Los contenidos en lisina y treonina en las dietas A, C y E, normalmente limitantes en raciones de conejos, fueron respectivamente 9.1, 7.2 y 4.3; 7.3, 6.1 y 4.3 g/kg MS.

Predicción del valor nutritivo de los henos de alfalfa

Los resultados del análisis de regresión stepwise, a partir de la composición química y de la digestibilidad in vitro, para la predicción de las digestibilidades de energía, PB, lisina, treonina y contenido de energía digerible de los henos de alfalfa, se muestran en el Cuadro 7.

El mejor predictor individual para la digestibilidad de la EB (CDE) y el contenido en energía digerible (Ed) fue la concentración de FND de la dieta (sobre % MS). La predicción del CDE mejoró cuando se introdujo en el modelo la digestibilidad de la MS in vitro (Cuadro 7). También se obtuvieron para el contenido en Ed y CDE buenas correlaciones cuando se utilizó el contenido en EB ($\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$) de la dieta como segunda variable independiente:

$$\text{CDE} = -0.041(\pm 0.544) - 0.009(\pm 0.001) \text{FND} + 0.051(\pm 0.030) \text{EB}; \quad r^2 = 0.742; \\ P < 0.001$$

La variable independiente mejor correlacionada con la digestibilidad de la PB (CDPB) fue la concentración de polisacáridos no amiláceos (PNA) de la dieta (Cuadro 7). No se encontró ninguna otra variable que entrara en el modelo con una significación inferior al 15%. También se obtuvieron altas correlaciones individuales con los contenidos en FND (sobre % MS) y proporción de nitrógeno en FAD respecto al nitrógeno total

($N_{\text{fad}}/\text{total N}$) de la dieta:

$$\text{CDPB} = 0.901(\pm 0.041) - 0.004(\pm 0.001) \text{FND}; \quad r^2 = 0.32; \quad P < 0.001$$

$$\text{CDPB} = 0.868(\pm 0.034) - 0.022(\pm 0.005) N_{\text{fad}/\text{total N}}; r^2 = 0.32; P < 0.001$$

Sin embargo la digestibilidad in vitro de la PB estuvo poco relacionada con el CDPB in vivo de los henos de alfalfa ($r=0.032$, NS).

Las digestibilidades de los aminoácidos se correlacionaron con la CDPB ($r^2 = 0.91$). Cuando se incluyeron en el modelo únicamente parámetros químicos, se obtuvieron las siguientes ecuaciones de regresión para las digestibilidades de la lisina (CDLIS) y treonina (CDTRE).

$$\text{CDLIS} = 1.121(\pm 0.073) - 0.011(\pm 0.002) \text{FND} + 0.027(\pm 0.016) N_{\text{fnd}/\text{total N}}; r^2 = 0.75; P < 0.001$$

$$\text{CDTRE} = 1.021(\pm 0.061) - 0.006(\pm 0.001) \text{FND}; r^2 = 0.65; P < 0.001$$

DISCUSION

Las digestibilidades aparentes de los nutrientes in vivo fueron muy influenciadas por el tipo de heno de alfalfa. Los valores de digestibilidad de MS, MO, energía y FND de la dieta A fueron aproximadamente un 40% mayores que para la dieta E. Se encontraron menores diferencias (10%) para la digestibilidad de la PB, aunque el contenido en proteína bruta digestible fue un 44% mayor en la dieta A que en la E.

Las digestibilidades de la energía fueron menores (entre un 5-17%) que las predichas para cada heno de alfalfa de acuerdo con la ecuación propuesta por Wiseman y col (1992) para alimentos concentrados. Este resultado confirma la necesidad de mayor información para desarrollar una ecuación general de predicción extrapolable a alimentos fibrosos. Sin embargo, los valores concuerdan con la ecuación propuesta por De Blas y col (1992) para dietas completas ($\pm 4\%$). También concuerdan estos valores con el encontrado por Maertens y De Groot (1981) de 0.42 para un heno de alfalfa con un contenido de 27.5% de fibra bruta (% MS).

Los valores relativamente altos obtenidos para la digestibilidad de la PB (0.67-0.74) muestran la capacidad de los conejos para digerir la proteína del forraje a través de la fermentación cecal microbiana y la cecotrofia. Por otra parte, los bajos valores obtenidos para la digestibilidad de la FND (0.20-0.28) concuerdan con los expuestos anteriormente por Gidenne (1990). Estos se explican por los mecanismos de separación de las partículas fibrosas en la válvula ileocecal, que evitan la entrada de gran cantidad de fibra en el ciego y el breve tiempo de fermentación en el ciego (6.9 h para una dieta con 76.5% de heno de alfalfa; Gidenne y col, 1991).

El tipo de heno de alfalfa tuvo un efecto variable sobre la digestibilidad de los aminoácidos. El efecto fue mayor para la lisina (17,5% de diferencia entre las dietas A y E) y la treonina (13,5%), los aminoácidos limitantes más frecuentes en raciones de conejos. Este resultado apunta la necesidad de expresar las necesidades de los animales y contenido en los alimentos de aminoácidos en contenido digestible de los mismos.

Los resultados de este trabajo muestran que los métodos de laboratorio in vitro diseñados para dietas completas y alimentos concentrados necesitan algunos ajustes para poder ser aplicados en la predicción de la digestibilidad de la PB de forrajes en conejos.

BIBLIOGRAFIA

AOAC, 1984. Official Methods of Analysis (14th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Blumenkrantz, B. and Asboe-Hansen, G., 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, 54: 484-489.

Cohen, S.A., Meys, M. and Tarvin, T.L., 1989. The pico.tag method. A manual of advanced techniques for amino acid analysis. Millipore Corp, Bedford, USA, 123 pp.

de Blas, C., Wiseman, J., Fraga, M.J. and Villamide, M.J., 1992. Prediction of the digestible energy and digestibility of gross energy of feeds for rabbits. 2. Mixed diets. *Anim. Feed Sci. and Technol.*, 39: 39-59.

Gidenne, T., 1990. Digestion des constituants parietaux et activite fermentaire caecale chez le lapin en croissance: incidence du taux d'incorporation et de la granulométrie de la source de fibre. VI Journées des Reserchessur l'Alimentation et la Nutrition des herbivores, 1990, Paris, France. Communication n° 27.

Gidenne, T., 1991. Fibre digestion and rate of passage in the rabbit: effect of particle size and level of lucerne meal. *Anim. Feed Sci. and Technol.*, 32: 215-221.

Goering, H.K. and Van Soest, P.J., 1970. Forage Fiber Analysis. USDA Agricultural Handbook 379, USDA, Washington, DC.

Harris, P.M., Henry R.J., Blakeney, A.B. and Stone, B.A., 1984. An improved procedure for the methylation analysis of oligosaccharides and polysaccharides. *Carbohydrate Research*, 127: 59-73.

Maertens, L. and De Groote, G., 1981. L'énergie digestible de la farine de luzerne déterminée par des essais de digestibilité avec des lapins de chair. *Revue de l'Agriculture* n° 1, 34: 79-92.

Maertens, L., Moermans, R. and De Groote, G., 1988. Prediction of the apparent digestible energy (ADE) content of commercial pelleted feeds for rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.*, 11: 60-67.

Ramos, M.A., Carabaño, R. and Boisen, S., 1992. An in vitro method for estimating digestibility in rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.*, 15: 938-946.

Statistical Analysis Systems Institute, 1985. SAS User's guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.

Wiseman, J., Villamide, M.J., de Blas, C. and Carabaño, R.M., 1992. Prediction of the dietary energy value of feeds for rabbits. 1. Individual classes of feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 39: 27-38.

CUADROS

Tabla 1. Composición química de los henos de alfalfa (g.kg^{-1} MS)

Heno de alfalfa

Item	A	B	C	D	E
MS	902	919	918	923	937
Cenizas	116	114	112	102	105
FB	248	299	287	309	372
FND	387	478	489	490	550
FAD	295	355	358	367	402
LAD	60	80	79	80	90
PNA	315	324	359	340	413
PB	220	222	209	177	169
Nfad	2.0	2.3	2.0	2.0	2.3
Nfnd	5.0	8.3	7.3	5.2	6.6
EB, kJ.g^{-1} MS	17.9	18.0	17.8	18.2	17.9

MS: Materia seca. FB: Fibra bruta. FND: Fibra neutro detergente. FAD: Fibra ácido detergente. LAD: Lignina ácido detergente. PNA: Polisacáridos no amilaceos. PB:

Proteína bruta. Nfad: Nitrógeno ligado a FAD. Nfnd: Nitrógeno ligado a FND

Tabla 2. Composición en polisacáridos no amilaceos (PNA) de los henos de alfalfa (g.kg^{-1} PNA)

Henos de alfalfa

Item	A	B	C	D	E
Rhamnosa	22	19	14	24	17
Fucosa	9	22	6	18	12
Arabinosa	54	49	44	53	36
Xylosa	139	136	145	132	145
Mannosa	28	31	31	29	29
Galactosa	54	49	50	50	46
Glucosa	489	469	507	473	523
Acidos urónicos	235	225	203	220	191

Tabla 3. Contenido en aminoácidos ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ MS) de los henos de alfalfa
Henos de alfalfa

Aminoácido	A	C	E
Gli	10.2	9.4	7.4
Asp	22.2	21.2	5.8
Thr	9.4	8.4	6.5
Ser	9.8	9.2	7.9
Glu	20.6	19.2	17.7
Ala	11.5	10.2	7.8
Val	11.4	10.5	8.4
Ile	9.0	8.1	6.3
Leu	15.4	14.1	11.1
Tyr	5.8	5.0	4.1
Phe	10.3	9.3	7.3
Lys	11.2	9.5	6.4
His	5.6	5.2	4.2
Arg	12.7	10.4	8.9
Pro	15.6	13.5	12.6

Tabla 4. Digestibilidad de nutrientes in vitro de los henos de alfalfa

Henos de alfalfa

Ítem	A	B	C	D	E	ETM ¹
MS	0.619	0.544	0.555	0.530	0.492	0.004
MO	0.596	0.529	0.544	0.516	0.470	0.007
PB	0.819	0.781	0.803	0.833	0.813	0.003

¹ Error típico de las medias (n=3)

Tabla 5. Efecto del tipo de alfalfa sobre la digestibilidad aparente de nutrientes

Heno de alfalfa

Item	A	B	C	D	E	ETM ¹	p ²
MS	0.547 ^a (11) ^d	0.477 ^b (13)	0.464 ^b (9)	0.470 ^b (10)	0.407 ^c (8)	0.007	0.001
MO	0.524 ^a (11)	0.455 ^b (13)	0.438 ^b (9)	0.455 ^b (10)	0.377 ^c (8)	0.008	0.001
Energía	0.512 ^a (11)	0.425 ^b (12)	0.420 ^b (9)	0.437 ^b (10)	0.359 ^c (8)	0.009	0.001
Nitrógeno	0.744 ^a (11)	0.736 ^{ab} (8)	0.716 ^b (8)	0.727 ^{ab} (8)	0.674 ^c (8)	0.010	0.001

¹ Error típico de las medias² Probabilidad de diferencias significativas entre las medias de los tratamientos

a,b,c Las medias con superíndices son diferentes estadísticamente (P<0.05)

^d Numeros entre paréntesis indican el número de análisis por dieta**Tabla 6.** Efecto del tipo de alfalfa sobre la digestibilidad fecal aparente de los aminoácidos
Heno de alfalfa

Aminoácido	A	C	E	ETM ¹	p ²
Gli	0.738 ^a	0.692 ^b	0.634 ^c	0.01	0.001
Asp	0.830 ^a	0.790 ^b	0.758 ^b	0.01	0.006
Thr	0.774 ^a	0.722 ^b	0.670 ^c	0.02	0.001
Ser	0.744 ^a	0.698 ^{ab}	0.664 ^b	0.01	0.009
Glu	0.794 ^{ab}	0.758 ^b	0.812 ^a	0.01	0.023
Ala	0.778 ^a	0.736 ^a	0.688 ^b	0.01	0.004
Val	0.774	0.744	0.708	0.02	0.073
Ile	0.811 ^a	0.753 ^b	0.746 ^b	0.01	0.007
Leu	0.816	0.778	0.760	0.01	0.056
Tyr	0.832	0.802 ^a	0.802	0.01	0.247
Phe	0.810 ^a	0.748 ^b	0.754 ^b	0.01	0.007
Lys	0.814 ^a	0.760 ^b	0.672 ^c	0.02	0.001
His	0.774 ^a	0.718 ^b	0.700 ^b	0.01	0.001
Arg	0.884	0.856	0.854	0.01	0.210
Pro	0.866 ^a	0.820 ^b	0.816 ^b	0.01	0.001

¹ Error típico de las medias (n=5)² Probabilidad de diferencias significativas entre las medias de los tratamientos

a,b,c Las medias con superíndices son diferentes estadísticamente P<0.05

Tabla 7. Estimación de la digestibilidad aparente de los henos de alfalfa calculados por el método stepwise (n = 40) (Números en paréntesis indican el error típico)

Item	Ecuación de regresión	R ²	P
CDE	Paso 1: 0.868 (± 0.038) - 0.00913 (± 0.00081)		
FND	Paso 2: 1.27 (± 0.21) - 0.0124 (± 0.0018)		
	FND - 0.462 (± 0.233) IVMSD	0.727 0.748	<0.001 <0.001
Ed (kJ.g MS ⁻¹)	Paso 1: 15.6 (± 0.71) - 0.164 (± 0.015)		
FND	Paso 2: -9.68 (± 9.59) - 0.166 (± 0.014)		
	FND + 1.41 (± 0.53) EB	0.719 0.755	<0.001 <0.001
CDPB	Paso 1: 0.969 (± 0.043) - 0.0071 (± 0.0012) PNA	0.443	<0.001
CDLIS	Paso 1: -0.287 (± 0.089) + 1.44 (± 0.124) CDPB	0.912	<0.001
CDTRE	Paso 1: -0.084 (± 0.057) + 1.125 (± 0.080) CDPB	0.938	<0.001

FND: Fibra neutro detergente (% MS)

IVMSD: Digestibilidad in vitro de la MS

EB: Energía bruta, kJ/g MS

PNA: Polisacáridos no amiláceos (% MS)

CDPB: Digestibilidad de la proteína in vivo

