

CAPÍTULO 12

CALIDAD NUTRITIVA DE LOS PASTOS PIRENAICOS

A. Marinas y R. García-González

Introducción

Las características micro-anatómicas de las plantas determinan en su valor nutritivo. La pared celular esta compuesta por diferentes tipos de fibra, algunas de ellas indigestibles, mientras que el citoplasma contiene los productos más nutritivos y digestibles (figura 12.1). Las fibras que componen la pared celular están formadas por varios tipos de polisacáridos de estructura compleja. Las principales son celulosa, hemicelulosa y lignina. Los herbívoros que portan bacterias celulolíticas en su aparato digestivo, tales como los rumiantes, pueden digerir la celulosa y parcialmente la hemicelulosa, pero no la lignina. Así pues la calidad nutritiva de una planta estará en relación con la proporción de pared celular que contengan sus células. Las gramíneas suelen tener mayores

contenidos en fibra, especialmente en hemicelulosa, que las dicotiledóneas. Sin embargo éstas últimas suelen tener mayor contenido en lignina, principalmente las especies leñosas. En general las dicotiledóneas poseen mayor contenido en proteína que las gramíneas.

La estructura celular de las plantas varía con la madurez, la parte de la planta (hojas o tallos), o el sistema fotosintético (C_3 o C_4). Conforme avanza el crecimiento de la planta, por lo general aumenta su proporción en fibra y disminuye su calidad nutritiva (figura 12.1). Además, las hojas tienen mayor contenido celular y menor pared celular que los tallos. Las plantas C_4 son más eficientes al realizar la fotosíntesis a elevada humedad y temperatura. La mayoría de las gramíneas tropicales son C_4 , mientras que la mayor parte de plantas de ambientes templados son C_3 . Las plantas C_4 contienen mayor cantidad de esclerénquima, formada principalmente por lignina, por lo que, en general, su calidad nutritiva es más baja que la de las plantas C_3 .

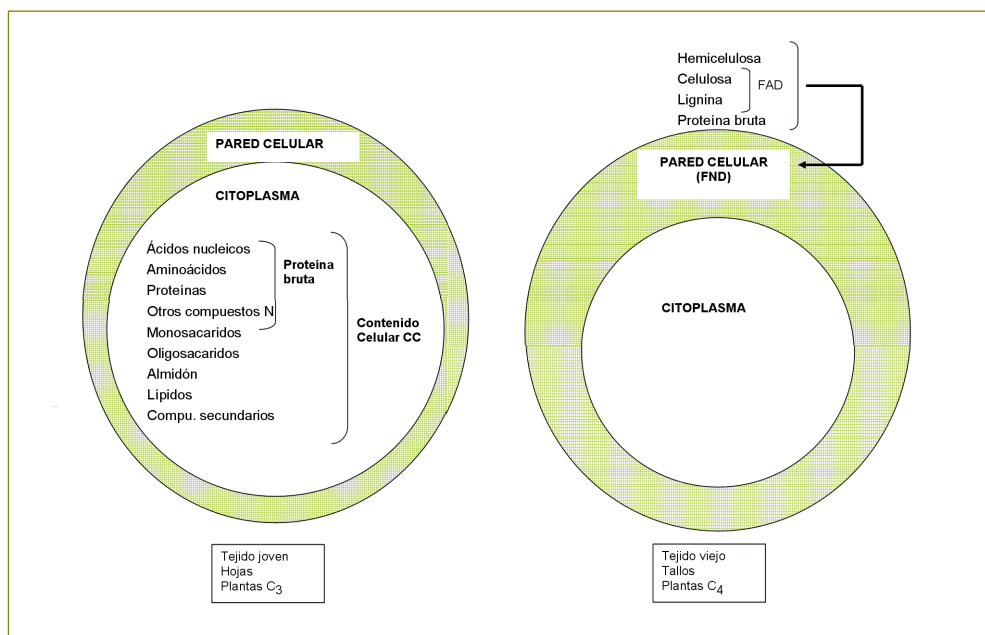


Fig. 12.1. Diferente composición de la célula vegetal según el estado fenológico de la planta, la parte de la planta y el tipo fotosintético (C_3 o C_4). CC: contenido celular más pectina; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente (según Huston y Pinchak, 1991).

Consideraciones metodológicas sobre el valor nutritivo de los pastos
¿Cuándo muestrear?

Uno de los factores que más influye en la variación de la composición química de las plantas es el estado fenológico en el que se encuentran. En general, su valor nutritivo disminuye con la madurez. En estados fenológicos avanzados disminuye la digestibilidad de las especies vegetales, su contenido proteico y mineral, y aumentan el contenido de la pared celular y la biomasa (Chapin III *et al.*, 1975; INRA, 1990). En la *figura 12.2* se representa el efecto de la madurez en la composición química de las plantas. Puede observarse el

De esta forma se observa la evolución de los componentes químicos durante todo el ciclo vegetativo de las plantas. Los muestreos se suelen realizar mensualmente, cada quince días o semanalmente, dependiendo de la rapidez de los cambios fenológicos de las especies o comunidades que se quieran estudiar. Si sólo puede realizarse un muestreo, hay que indicar la fase fenológica en que se encuentra el vegetal.

¿Dónde muestrear?

Elegir la o las zonas de estudio es uno de los aspectos más delicados del diseño del muestreo. Se precisa tener una cierta experiencia en

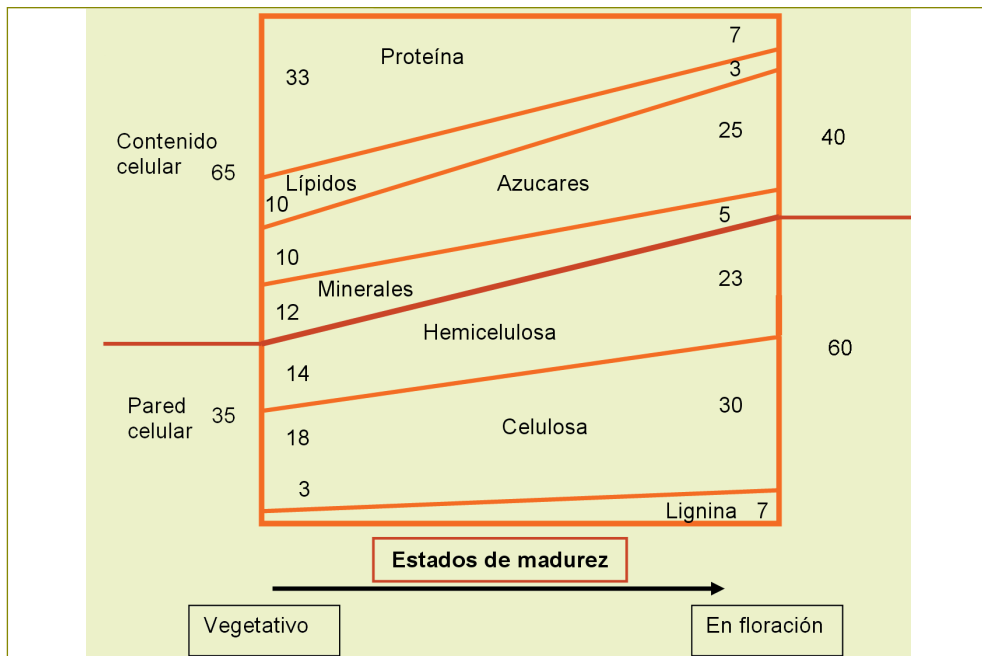


Fig. 12.2. Representación esquemática del efecto de la madurez en la composición química de las gramíneas. Los números representan el porcentaje de la materia seca en cada fracción orgánica, (adaptado de Beaver *et al.*, 2000).

aumento de los componentes de la pared celular y la disminución del contenido celular a medida que la planta madura.

Por lo expuesto anteriormente, para determinar el valor nutritivo de pastos y prados conviene realizar muestreos periódicos.

la estructura y dinámica de los pastos, o bien consultar con un experto, al diseñar el muestreo y elegir las zonas. Es muy importante tener claros los objetivos del trabajo. Si lo que deseamos es conocer la composición química de una o varias comunidades concretas,

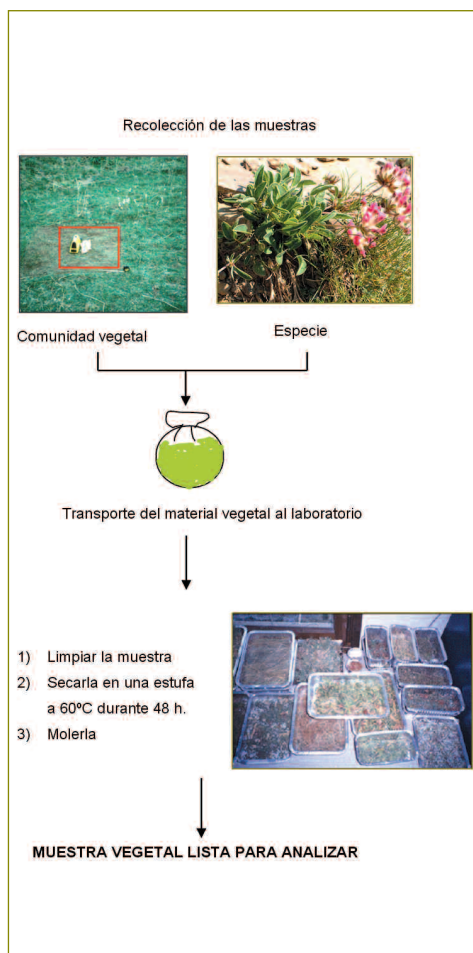


Fig. 12.3. Esquema de la preparación de las muestras vegetales en el laboratorio cuya composición química se desea determinar.

debemos buscar lugares en donde su estructura se muestre más homogénea, de una forma parecida a cuando se realizan los inventarios fitosociológicos (ver *cap. 8*). La elección puede no resultar fácil, pues a menudo las comunidades pascícolas no se encuentran en pureza y se presentan en forma de mezclas más o menos complejas con otras comunidades.

Si lo que se pretende es conocer el valor nutritivo de determinados territorios o zonas de pastos como alimento para el ganado, deberemos tener en cuenta la selección que estos realizan de dichos territorios, por lo que

será imprescindible poseer un conocimiento básico sobre la distribución espacial y uso del territorio por parte del ganado.

Uno de los factores que más influye en la distribución de las comunidades vegetales es el tipo de suelo. La geografía, la geología, el clima y los animales en pastoreo son factores que influyen en la concentración de minerales en el suelo. Altas concentraciones de nitrógeno, o de determinados minerales en el suelo, pueden hacer aumentar también la concentración de dichos elementos en la planta (Minson, 1990). Por ejemplo, las plantas calcícolas (*Anthyllis vulneraria*, *Lotus alpinus*) suelen acumular calcio en sus tejidos; por el contrario, las calcífugas (*Festuca eskia*, *Nardus stricta*) tienen bajos contenidos de este elemento (Larcher, 1995; Marinas y García-González, 2006). Por otra parte, si se desea conocer el contenido medio en nitrógeno de una comunidad o especie vegetal, debe evitarse muestrear, por ejemplo, en lugares muy fertilizados por los animales, ya que dicho contenido puede resultar sobreestimado.

¿Cómo muestrear?

El sistema clásico de recolectar las muestras de material vegetal para su análisis químico, es mediante el corte de una cantidad determinada de dicho material. El proceso de preparación del material vegetal para su posterior análisis químico se puede observar en la *figura 12.3*. La cantidad mínima depende del número de nutrientes a valorar y de los sistemas de análisis. Para el total de análisis de nitrógeno, fibra y minerales con aparatos convencionales, una cantidad mínima de 50 gramos en fresco suele ser suficiente. Debe tenerse en cuenta que se trata de un método destructivo, por lo que la repetición de muestreos posteriores debería hacerse sobre material homologable. Una variante del sistema de corte es el llamado “muestreo a puñados”, que consiste

en arrancar la hierba que cabe en el puño de la mano, cada cierto número de pasos, tratando de imitar los mordiscos de los grandes herbívoros. Se utiliza para el muestreo de grandes superficies (Wallies de Vries, 1995). Las técnicas no destructivas, basadas en sensores espectrales instalados en satélites u otros medios (fig. 11.6), pueden representar un buen recurso en el futuro para la determinación de la calidad de los pastos, al igual que se realiza para la producción (Mirik *et al.*, 2005).

En cuanto al número de muestras, dependerá de la superficie a muestrear y de su heterogeneidad. Cuando se trata de grandes superficies, como por ejemplo un puerto estival, la estrategia consistirá en sectorizar el territorio por comunidades vegetales, u otro tipo de estratificación, y realizar un muestreo representativo de las unidades establecidas. Para determinar el número mínimo de muestras representativo de la unidad, puede seguirse un sistema similar al de las curvas de extinción utilizadas para determinar la producción (figura 11.5). Por lo general, las comunidades muy diversas requerirán un mayor número de muestras, aunque hay excepciones. Por ejemplo, las comunidades de *Festucion eskiae* frecuentemente presentan sólo dos especies dominantes: *Festuca eskia* y *Trifolium alpinum* y éstas a menudo se presentan formando manchas densas casi monoespecíficas. Sin embargo, la composición química de estas dos especies es muy diferente (Marinas y García-González, 2006) y habrá que tener en cuenta la proporción de cada especie en la comunidad para obtener un valor medio representativo de la misma.

El estudio del valor nutritivo de una comunidad o especie pascícola *per se*, suele hacerse sobre material no pastado o protegido por cercados de exclusión. Cuando queremos conocer el valor nutritivo de la hierba que está siendo pastoreada por los animales, el diseño

de muestreo se complica extraordinariamente. Por un lado, hay que tener en cuenta que algunas especies o tipos de pasto son muy consumidas y otros son rechazados, por lo que el muestreo también debería ser selectivo. Otra posibilidad es conocer la composición botánica de la dieta de los animales e intentar reconstruir la calidad de la dieta a partir de dietas simuladas (Coppock *et al.*, 1986). Otro factor a tener en cuenta es la altura de corte de la hierba. Si se trata se simular la ingesta de los herbívoros, la altura de pastoreo varía entre especies animales. Incluso dentro de una misma especie animal, la altura de pastoreo puede ser distinta si pasta sobre gramíneas o dicotiledóneas.

Valoración nutritiva de los pastos

En este apartado expondremos algunos de los principales elementos de la composición química de los pastos y especies pascícolas, así como de los métodos que suelen utilizarse para determinarlos.

Contenido energético

Al igual que todos los seres vivos, los animales pastadores necesitan **energía**, tanto para mantenerse, como para alcanzar los diferentes tipos de producción a los que estén sujetos. Los rumiantes y los herbívoros de digestión cecal (équidos), son capaces de obtener energía a partir de los polisacáridos de la pared de la célula vegetal, mediante organismos microbianos que alojan en sus cámaras de fermentación (rumen, ciego). Esta energía es adicional a la obtenida de los carbohidratos no estructurales, proteína, lípidos etc., los cuales son altamente digestibles. Los productos finales de la fermentación (principalmente ácidos grasos volátiles), también son utilizados como fuente de energía. Sin embargo, no toda la energía que ingieren los herbívoros

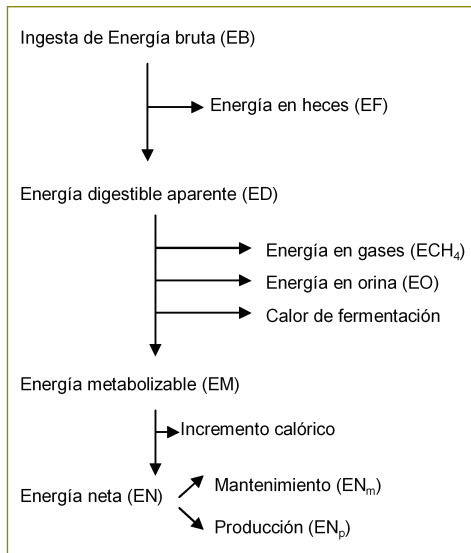


Fig. 12.4. Esquema de la utilización de la energía de los alimentos por los rumiantes.

puede ser utilizada para su mantenimiento y producción (figura 12.4).

La **Energía Bruta (EB)** es la energía calorífica contenida en la materia seca del alimento consumido medida en kilocalorías por gramo (kcal/g MS) ó en kilojulios por gramo (kJ/g MS). Ésta sufre varias transformaciones en el tracto digestivo pero sólo una parte es absorbida. El porcentaje de la ingesta que se absorbe por las paredes del aparato digestivo es la **Energía Digestible (ED)**. Varía con la calidad del alimento y con el contenido que éste tiene en elementos poco digeribles como hemicelulosa o lignina, lo cual también depende del estado vegetativo y por tanto de la época del año en la que se consume. Normalmente se encuentra entre el 40-60 % de la ingesta total. De la energía digestible una parte se pierde en forma de orina y gases, especialmente en el caso de los rumiantes, y el resto es lo que se denomina **Energía Metabolizable (EM)**. Se asume que sólo el 82 % de la ED interviene en el metabolismo. Los productos finales de la digestión sufren varias transformaciones en los tejidos, una parte de

esta energía, es la denominada **Energía Neta (EN)**. Los herbívoros la utilizan para cubrir los gastos de mantenimiento y de producción; el resto de la energía metabolizable se transforma en calor.

El estudio del metabolismo de los rumiantes

Existen varias técnicas (directas e indirectas) para el estudio del metabolismo de la energía en los animales domésticos (Church, 1988). Una de las más utilizadas es la **calorimetría**, la cual se basa en la medición de la pérdida de calor. Ésta puede medirse directamente con un calorímetro de calor húmedo o con un calorímetro de capa gradiente, que estiman el calor producido por el animal midiendo sus cambios de temperatura en una cámara. Estos sistemas son muy caros, por lo que hay pocos en funcionamiento. La calorimetría indirecta se

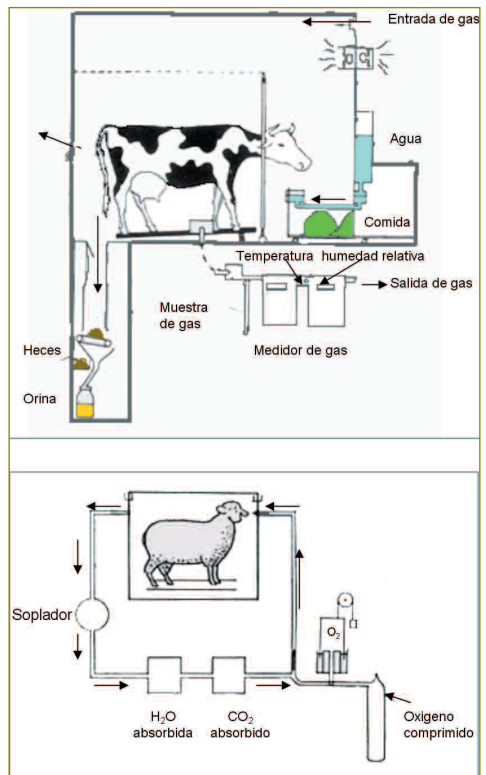


Fig. 12.5. Calorímetro de respiración de circuito abierto (arriba) y cerrado (abajo) (según van Soest, 1994).

basa en el principio de que la producción de calor metabólico es el resultado de la oxidación de compuestos orgánicos. Esta producción se calcula a partir de las cantidades de O₂ consumido, CO₂ y metano (CH₄) producidos y nitrógeno urinario. Los calorímetros indirectos (de respiración) pueden ser de circuito cerrado o abierto. Este último es el más utilizado y el aire que circula en la cámara lo hace a una determinada velocidad (figura 12.5). Las concentraciones de O₂, CO₂ y CH₄ se calculan como la diferencia de concentración entre el aire que entra y el que sale por la velocidad de flujo. Los calorímetros de circuito cerrado estiman la producción de calor indirectamente a través del cociente entre el oxígeno neto utilizado y el CO₂ y el H₂O producidos. Otro tipo de técnicas para estudiar el metabolismo en los animales son los estudios del balance energético, o mediante el sacrificio comparativo de los animales, o mediante otro tipo de técnicas que estudian el metabolismo en el animal completo (Church, 1988).

El contenido energético de los vegetales

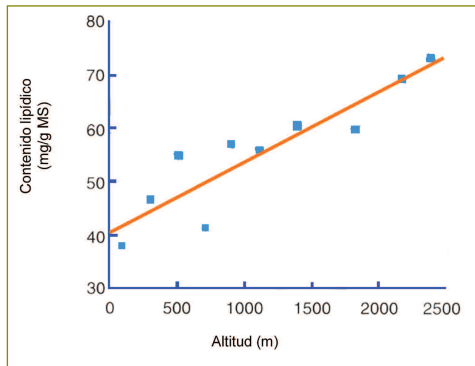


Fig. 12.6. Concentración lipídica total en la biomasa herbácea frente al gradiente altitudinal del monte Olimpus en Grecia (adaptada de Pantis *et al.*, 1987 en Körner, 1999).

En el caso de las plantas existe una estrecha relación entre su contenido lipídico y energético. El contenido lipídico en las plantas aumenta con la altitud (independientemente de

la latitud) y tiende a ser muy alto en las plantas alpinas (figura 12.6).

Se asume que la energía bruta de los vegetales es de 4,4 kcal/g MS por término medio. Para pastos alpinos se estima que el valor de la EB es ligeramente superior al anterior: 4,7 kcal/ g MS (tabla 12.1). El contenido energético de las plantas también varía con el tiempo, aumentando en los tejidos maduros.

Tabla 12.1. Contenido en energía de partes de la planta y de comunidades (Robbins, 1993)

Parte de la planta o Comunidad vegetal	Contenido energético (kcal/g)
Hojas	4,229
Tallos y ramas	4,267
Materia en descomposición	4,720
Raíces	4,298
Semillas	5,065
Bosque tropical	3,879
Prado de herbáceas	4,177
Prado de <i>Poa</i>	4,075
Bosque de <i>Pinus sylvestris</i>	4,787
Pastos de montaña	4,711
Arbustos alpinos	4,790

Las flores y los frutos tienen unos contenidos lipídicos y energéticos más altos que los tallos y hojas, debido a los aceites o grasas, ceras, resinas y otros compuestos que suelen contener en mayor proporción (Bliss, 1962; Robbins, 1993).

La medida más frecuente de la energía de una especie o comunidad vegetal, es como calor de combustión (energía bruta) y las unidades de medida más utilizadas son la caloría (cal) y el julio (J) (1 cal = 4,184 J). La caloría se define como la cantidad de calor necesario para incrementar la temperatura de 1 gramo de agua desde 14,5°C a 15,5°C. La bomba calorimétrica es el aparato que se utiliza para medir el calor liberado cuando una muestra de tejido vegetal es completamente oxidada (figura 12.7).

A partir de la energía bruta y conociendo la digestibilidad del material vegetal (D), se puede estimar la energía digestible y aplicando

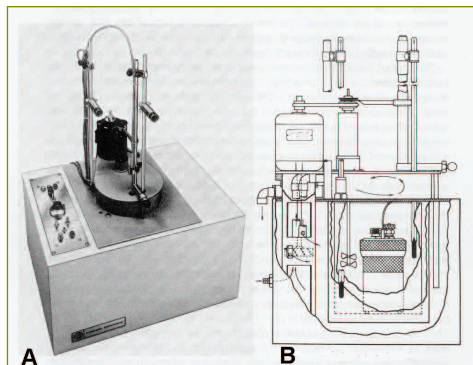


Fig. 12.7. Bomba adiabática calorimétrica utilizada para la determinación del contenido en energía química de muestras vegetales o animales. B sección transversal de una bomba calorimétrica (según Robbins, 1993).

un factor de corrección de 0,82, la energía metabolizable ($EM = 0,82 \cdot D \cdot EB$). Para calcular la energía neta los cálculos son más complicados ya que deben conocerse el tipo de animal (especie, sexo, edad) y estado fisiológico o nivel de producción al que se haya sometido. Normalmente, se utilizan tablas estandarizadas para estos cálculos (NRC, 1985, 1996).

Existen otros sistemas de valoración de la energía de los alimentos, como el sistema norteamericano llamado **total de principios nutritivos digeribles** (TND en inglés) y el sistema francés de las **unidades forrajeras** (UF). El primero se basa en el análisis proximal de Weende (ver más adelante). Se define TND como la suma de la proporción totalmente digerible de cada uno de los componentes orgánicos de la planta con un factor de ajuste de 2,25 (Blaxter, 1964; ARC, 1980; Huston y Pinchak, 1991). Las **unidades forrajeras** se basan en que el valor energético de un alimento equivale a la cantidad de energía (energía neta) de un kilogramo de este alimento, que contribuye a cubrir las necesidades de conservación y de producción de los animales. Este valor se mide en kcal/kg de alimento. Sin embargo se ha referido al de un kg de cebada media con el 87 por 100 de materia seca

(INRA, 1990). Teniendo en cuenta las diferencias en la eficacia de utilización de la energía metabolizable para la lactación y el cebo se han definido dos valores energéticos para cada alimento: las unidades forrajeras lecheras (UFL) para la producción lechera y las unidades forrajeras cárnicas (UFC) para la producción de carne.

Proteína

Entre todos los diferentes nutrientes que contienen las plantas el **nitrógeno** es especialmente importante. En cantidad de fitomasa, es el cuarto de los bioelementos, después del C, O e H y es uno de los nutrientes que limita el crecimiento vegetal. El nitrógeno es absorbido por las plantas del suelo en forma de nitrato o iones de amonio y con carbono forma aminoácidos y amidas. Los aminoácidos son los compuestos básicos para la síntesis de las proteínas, los ácidos nucleicos y los compuestos nitrogenados del metabolismo secundario (Larcher, 1995). Todos ellos son fundamentales para la elaboración del contenido celular. El nitrógeno se acumula en los tallos jóvenes, hojas, brotes, semillas y órganos de almacenamiento. La concentración de nitrógeno se suele utilizar como un estimador del **contenido proteico** de las plantas. La mayor parte de las proteínas se encuentran en el citoplasma de la célula y sólo una pequeña proporción se encuentra asociada a la pared celular (Robbins, 1993). Tanto desde el punto de vista analítico como biológico, debe tenerse en cuenta que sólo un 75-85 % de la proteína bruta se considera proteína verdadera. El resto son compuestos no proteicos que están en forma de aminoácidos libres, aminas, uréidos, péptidos de bajo peso molecular, ácidos nucleicos y otros compuestos nitrogenados, como los alcaloides. Éstos abundan en el aparato vegetativo y en las raíces de las plantas (INRA, 1990).

La concentración de nitrógeno total se suele determinar por el método Kjeldahl, consistente en mineralizar el nitrógeno orgánico con ácido sulfúrico y el nitrógeno amoniacal resultante se desplaza con sosa, determinándose ésta por valorimetría. La proporción de proteína bruta se obtiene multiplicando la proporción de nitrógeno total por el coeficiente 6,25,

$$\% N = \frac{\text{gasto ml HCl m} - \text{gasto ml HCl b}}{\text{g muestra}} \cdot 0,07005$$

lo cual presupone que las materias nitrogenadas analizadas contienen como media un 16% de nitrógeno (INRA, 1990). La concentración de nitrógeno se calcula mediante la siguiente expresión:

Siendo: gasto ml HCl m, los mililitros de HCl gastados en la valoración de la muestra vegetal; gasto ml HCl b, los mililitros de HCl gastados en la valoración del blanco (sin material vegetal); y g muestra, los gramos de la muestra vegetal que son utilizados en la determinación del N.

Pared celular

El material vegetal está compuesto por agua y materia seca, la cual, a su vez, contiene minerales y materia orgánica, formada a su vez por glúcidos, lípidos y proteínas. Los alimentos de los rumiantes son fundamentalmente de origen vegetal, incluyéndose sus constituyentes en dos tipos de estructuras: la pared celular y los contenidos intra-celulares. Existen principalmente dos métodos para determinar la fibra vegetal desde un punto de vista nutricional: el método Weende y el fraccionamiento de van Soest (tabla 12.2).

El método Weende se utiliza desde hace 150 años aproximadamente. Los componentes que se obtienen de este análisis son: **proteína bruta, extracto etéreo, fibra bruta, cenizas** y, por diferencia, el **extracto libre de nitrógeno (ELN)**. Pero este sistema tiene una serie de

inconvenientes, como el hecho de que la fracción fibra, teóricamente la menos digestible, a veces alcanza igual o mayor digestibilidad que la no-fibrosa (tabla 12.2). Por otra parte, la determinación de la proteína bruta asume que todo el nitrógeno está en forma de proteína, lo cual es incorrecto (Cherney, 2000). Debido a estas deficiencias, se han desarrollado otros métodos más exactos de fraccionamiento de los constituyentes fibrosos de las plantas.

En la actualidad el sistema propuesto y desarrollado por van Soest es el más difundido. La ventaja de esta técnica consiste en que los compuestos obtenidos, después de someter el tejido vegetal a una serie de digestiones químicas, tienen una significación biológica, acorde con el aprovechamiento que los animales rumiantes y monogástricos hacen de los mismos. Este sistema divide a los componentes de la célula vegetal en: **fibra neutro detergente (FND)** que representa a las paredes celulares (parcialmente digestibles); **fibra ácido detergente (FAD)** que es la llamada lignocelulosa (lignina+celulosa); **lignina ácido detergente (LAD)** está formada por lignina, cutina y minerales (no es digestible y dificulta la digestión de los glúcidos de las paredes celulares); y por último las **cenizas ácido detergentes (CAD)** (figura 12.8).

Por diferencia entre el contenido en materia seca y FND, se obtienen la concentración del **contenido celular o solubles neutro detergentes (CC o NDS)**, casi 100 % digestibles (figura 12.1). También por diferencia se obtiene el contenido de **hemicelulosa (FND-FAD)** y de **celulosa (FAD-Lignina-CAD)**. Uno de los inconvenientes que presenta este método, es que la elevada cantidad de proteína, u otro tipo de compuestos (por ej. lignina), puede impedir o dificultar el filtrado y por lo tanto no se pueda obtener la fibra neutro detergente. Sin embargo, tiene una gran ventaja, como la de que se pueden realizar un

gran número de muestras en poco tiempo. Esta técnica es la más utilizada para determinar el contenido en fibra de las plantas, pero el protocolo ha sufrido un gran número de modificaciones a lo largo de los años. Por

ejemplo, Hanley *et al.* (1992) han propuesto modificaciones para vegetales con altos contenidos en taninos (principalmente arbustos), para los cuales el método de van Soest produce desviaciones.

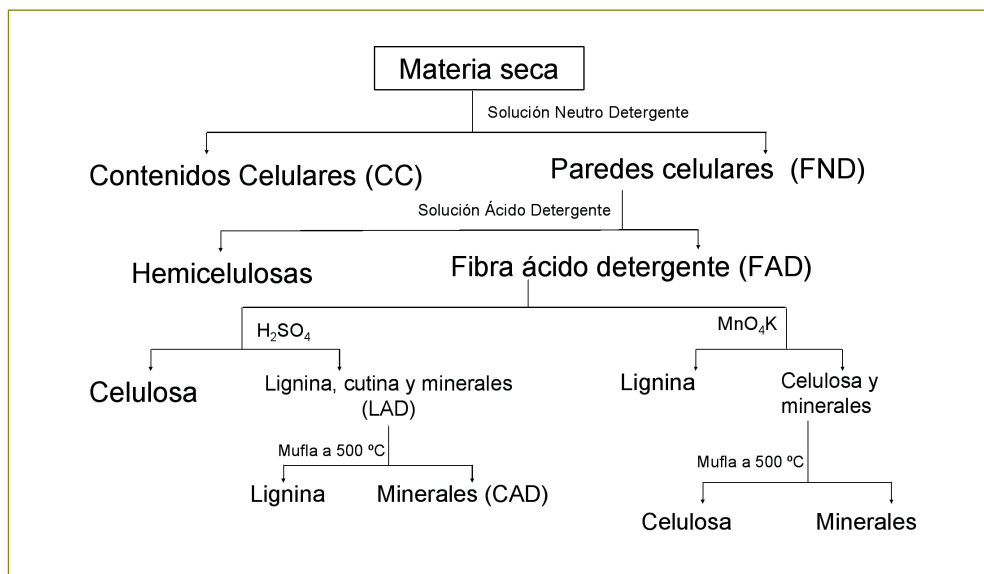


Fig. 12.8. Esquema del método de van Soest para el fraccionamiento de los componentes de la célula vegetal.

Tabla 12.2. Contraste entre los métodos de Weende y van Soest con los constituyentes químicos de la célula vegetal (adaptada de Cherney, 2000).

METODO WEENDE	CONSTITUYENTES QUÍMICOS	MÉTODO DE VAN SOEST
Proteína bruta	Proteína	Contenido celular
	N no proteico	
Extracto etéreo	Lípidos	
	Pigmentos	
Extracto libre de nitrógeno	Azúcares	
	Ácidos orgánicos	
	Pectina	
	Hemicelulosa	
Fibra bruta	Lignina soluble en álcali	Lignina
	Lignina insoluble en álcali	FAD
	Nitrógeno ligado a fibra	
Cenizas	Celulosa	CAD
	Minerales insolubles en detergente	
	Minerales solubles en detergente	

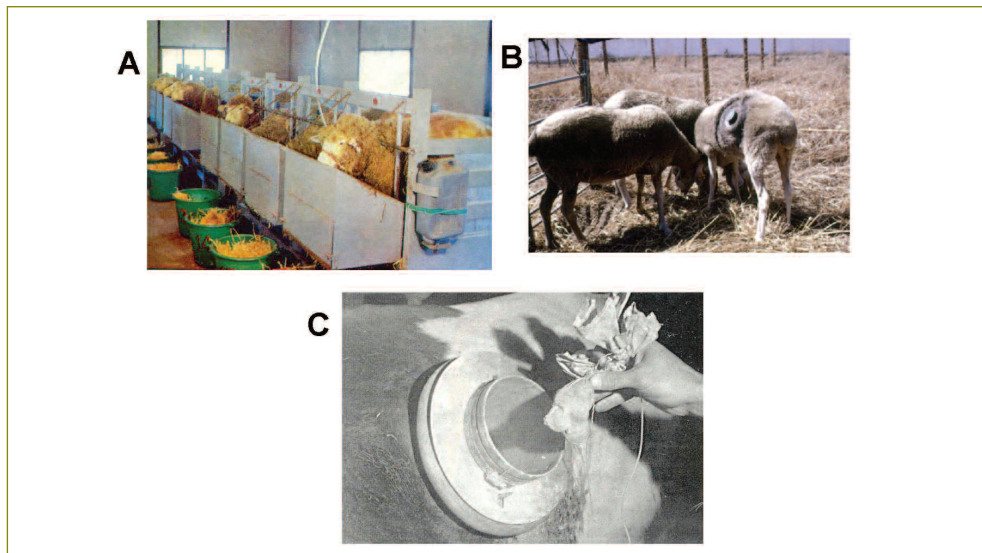


Fig. 12.9. Cajas de digestibilidad (A). Ovejas fistuladas (B). Detalle de animal fistulado introduciendo saquito de nylon (C). (Fotos A y C: Gálvez y Roselló, 1971; Foto B: Departamento de Nutrición Animal de la Universidad de Zaragoza)

Digestibilidad

La digestibilidad de un forraje es la diferencia entre la cantidad consumida y la cantidad excretada con las heces. Ésta última contiene cantidades importantes de materiales de origen endógeno y microbiano (no dietético). Por ello hay dos formas de calcular los coeficientes de digestibilidad: restando los materiales del metabolismo fecal (**digestibilidad aparente**) o sin restarlos (**digestibilidad real** o verdadera). La diferencia entre las digestibilidades real y aparente es lo que se denomina constante metabólica. Para las ovejas se estima que esta constante es de 11,9 y para las vacas 13,9, resultando una media de 12,9 de materia seca fecal de origen metabólico (van Soest, 1994).

La digestibilidad de las plantas herbáceas está bastante influida por su fenología, disminuyendo a medida que lo hace la proporción de tallos respecto de las hojas, ya que los primeros son menos digestibles (Minson, 1990). La digestibilidad se puede expresar en función de la materia seca o de la materia orgánica, dependiendo de sí se incluyen las cenizas o no,

respectivamente. Como resulta complicado calcular la digestibilidad mediante métodos *in vivo* (ver más abajo), numerosos investigadores han desarrollado distintas ecuaciones para estimarla en función del contenido de diferentes constituyentes químicos (para más información sobre las ecuaciones consultar las obras de Minson, 1990; van Soest, 1994 ó Givens *et al.*, 2000).

Digestibilidad *in vivo*

La determinación *in vivo* de la digestibilidad de los vegetales se realiza directamente, mediante experimentos con animales en los que puede controlarse la ingesta y la excreción. Se requieren condiciones y medios adecuados, por lo que normalmente sólo se practica en centros especializados en nutrición animal. La técnica *in vivo* más extendida es el uso de las cajas de digestibilidad. Éstas están provistas de unos dispositivos que permiten controlar las raciones consumidas por los animales y recoger las heces y la orina. La digestibilidad se determina por diferencia entre las cantidades ingeridas y excretadas. El

uso de este método tiene una serie de inconvenientes, ya que es necesario tener las infraestructuras y el personal necesario para mantener a una serie de animales de experimentación. Se necesita gran cantidad del material vegetal que se quiera analizar. También es necesario determinar la cantidad y composición química de la dieta y de las heces. El periodo experimental debe ir precedido de un periodo preparatorio, el cual debe servir para la completa eliminación de cualquier tipo de material vegetal que no sea objeto del análisis. Para los rumiantes se establece que este periodo es de ocho a catorce días, ya que los forrajes (o sus restos) pueden permanecer durante ese tiempo en el rumen.

Digestibilidad *in sacco*

Esta técnica consiste en colocar en el rumen de un animal fistulado unas bolsas de nylon que contienen el material vegetal que deseamos analizar. Es importante tener en cuenta que, factores como, la cantidad de muestra que se pone en la bolsita, el tipo de muestra (es decir, el grupo agronómico) y la dieta de los animales antes del experimento, pueden hacer variar los resultados. Los protocolos utilizados por varios autores aconsejan usar tres gramos de muestra seca y molida en un saquito de nylon especial, que se coloca dentro del rumen del animal fistulado durante 48 horas (figura 12.9). Posteriormente se lava y se realiza una digestión con pepsina *in vitro*. Se



Fig. 12.10. Extracción de líquido ruminal (Foto: Departamento de Nutrición Animal de la Universidad de Zaragoza).

vuelve a lavar y se pesa. Por diferencia de pesos se calcula la digestibilidad (Gálvez y Roselló, 1971). En esta técnica se requieren animales fistulados, siendo su mantenimiento bastante costoso. También es necesario que estos animales estén sujetos a unas dietas especiales, antes y durante el experimento.

Digestibilidad *in vitro*

La determinación de la digestibilidad *in vitro* es uno de los métodos más utilizados, debido a que no es una técnica muy cara, se pueden hacer un mayor número de muestras en menos tiempo y no se requiere tanta infraestructura como en los casos anteriores. La digestión *in vitro* puede determinarse mediante preparaciones enzimáticas o con licor ruminal (técnica de Tilley y Terry, 1963). También se puede estudiar todo el proceso de degradabilidad de los forrajes mediante la técnica de producción de gas y calcular la digestibilidad mediante ecuaciones (Marinas *et al.*, 2003). Existen en la bibliografía muy buenas correlaciones entre esta última técnica y la digestibilidad *in vivo*, siendo más ajustados que para la digestibilidad enzimática. A continuación se revisan con más detalle las diferentes variantes de digestibilidad *in vitro*.

a. con enzimas

Esta variante se fundamenta en dos ataques sucesivos, realizados por enzimas diluidos en tampones apropiados, que trata de imitar el proceso de digestión que se lleva a cabo en los estómagos de los rumiantes:

Pretratamiento de pepsina en medio ácido (HCl 0.1 N). Este primer paso permite la preparación de la muestra para que se produzca un mejor ataque por parte de la siguiente enzima.

Tratamiento mediante celulasa diluida en un tampón de acetato sódico 0.05 M, pH 4.6. La celulasa es una enzima que se encuentra en el estómago de los

rumiantes y actúa rompiendo los polímeros transformándolos en glucosa. Después de este proceso queda un residuo que no puede ser digerido por el animal.

b. con licor ruminal

La técnica de Tilley y Terry (1963) es la que más se utiliza para la determinación de la digestibilidad *in vitro*, aunque se han ido introduciendo varias modificaciones. Existen dos variantes de esta técnica: una (poco utilizada), se realiza en un recipiente abierto que permite la eliminación de los constituyentes digeridos, y otra (la más extendida), se realiza en recipientes cerrados, eliminando los residuos por filtración o extracción. Este último tipo utiliza tubos de centrifuga cerrados completamente, o que contienen una válvula que permite el escape de los gases de la fermentación.

Existen varios factores que pueden afectar los resultados obtenidos mediante esta técnica, tales como, la cantidad y la finura del molido de la muestra, la temperatura a la que se incubaba (se suele utilizar 39°C de forma constante), o el tiempo de incubación, entre otros. Otro factor importante es la alimentación de los animales fistulados en las horas previas a la extracción, ya que su actividad varía en relación con el porcentaje de nitrógeno que consumen los animales. La extracción del líquido ruminal se debe realizar justo en el momento previo al inicio del experimento (figura 12.10). Para analizar las muestras, en primer lugar se someten a un tratamiento con la solución tampón-líquido ruminal durante 48 h en un baño a 39°C; luego se digieren con una solución pepsina-ClH, y por último se filtra el contenido. Por diferencia de pesos se calcula la digestibilidad de la muestra.

c. Producción de gas

La variación temporal de la producción de gas permite una estimación muy aproximada de

la cinética de fermentación microbiana del alimento en el rumen. Con este método se puede estudiar la evolución de la fermentación del material vegetal sin necesidad de interrumpir el proceso, como sucede en el caso anterior. Se han desarrollado algunas variantes a partir de la inicial propuesta por Menke *et al.* (1979), el cual utilizaba jeringas de vidrio. El método más extendido es el de Theodorou *et al.* (1994), que usa botellas de vidrio selladas herméticamente. Se han propuesto diversos ajustes matemáticos para el estudio de la evolución de la fermentación microbiana *in vitro* a partir de la producción de gas (Fondevila y Barrios, 2001). Es importante tener en cuenta que la contribución de la proteína a la producción de gas es pequeña, pudiéndose producir desajustes al comparar alimentos con diferencias en su contenido proteico. Otro factor a tener en cuenta es que se necesitan animales fistulados para obtener el líquido ruminal, lo cual a veces resulta costoso, como se ha comentado anteriormente.

Este sistema se basa en mediciones de volumen de gas durante la incubación del material vegetal con líquido ruminal. Los controles se realizan con un transductor de presión, permitiendo la salida del gas en cada pinchazo para eliminar el efecto de presión acumulada. La producción de gas se lee a las 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 96 horas. Después de la última medición se filtran las botellas, el residuo se seca y se pesa para calcular la desaparición de materia seca (Marinas *et al.*, 2003).

Minerales

Las plantas absorben los minerales en forma de iones y los incorporan en sus estructuras celulares. Existe una gran variabilidad en la composición mineral de las especies vegetales asociada al tipo de suelo, el clima y el estado fenológico de éstas. Dicha variabilidad puede

provocar situaciones en las que la concentración de minerales sea suficiente para los herbívoros durante unos meses y deficiente el resto del año. Generalmente la concentración de los minerales está correlacionada con la digestibilidad del forraje. El aumento de la madurez de la planta va acompañado de una disminución de la concentración de minerales, debido al llamado “efecto dilución”. El incremento en el peso de la hoja como resultado del avance fenológico diluye el contenido de nutrientes por lo que disminuye su concentración (Larcher, 1995).

Desde el punto de vista de la nutrición animal, se suele dividir los minerales en dos grupos: los **macrominerales** (fósforo, potasio, calcio, magnesio, sodio, cloro y azufre) que aparecen en cantidades relativamente grandes en las plantas; y los **microminerales** o elementos traza (hierro, zinc, manganeso, cobre, molibdeno, yodo, selenio, cobalto, flúor, cromo) que se presentan en pequeñas cantidades (Chapin III *et al.*, 1975). La preparación de la muestra a analizar consiste en la mineralización de la planta, es decir, en la eliminación de la materia orgánica y disolución de los componentes minerales. El fósforo (P) se puede determinar por colorimetría del amarillo vanadomolibdofosfórico. El potasio (K) se puede analizar mediante espectrofotometría de emisión atómica y el calcio (Ca) y el magnesio (Mg) mediante espectrofotometría de absorción atómica. Actualmente se suele usar el espectrofotómetro de plasma (ICP) para estos análisis.

Reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS)

El NIRS (“Near-infrared Reflectance Spectroscopy”) es una técnica que permite determinar la totalidad de la composición del forraje. Está basada en la relación entre el espectro que se produce cuando la luz pasa a través de la muestra y los constituyentes químicos que

ésta contiene, los cuales son asociados a ciertas longitudes de onda de la luz absorbida. El NIRS analiza la región del espectro electromagnético comprendido entre los 700 a 2500 nanómetros. Cuando la luz incide sobre una muestra, una parte de los fotones se transmite a través de la misma, siendo el resto absorbida. La absorción de energía por la muestra produce que los enlaces entre carbono e hidrógeno, oxígeno e hidrógeno y nitrógeno e hidrógeno vibren en distintas formas (Cozzolino, 2002).

Es una técnica rápida, no destructiva ni contaminante y de gran exactitud, siempre que se sigan los procedimientos adecuados para crear las ecuaciones de calibración. Al realizar una calibración NIRS, se relaciona mediante un algoritmo la información espectral con la información de la composición físico-química a través de la aplicación de modelos estadísticos. Para predecir el valor nutritivo de las muestras se desarrollan ecuaciones de regresión entre los datos del espectro obtenido con el NIRS y los resultados del laboratorio con otro tipo de técnicas *in vitro*. La calibración de los NIRS es uno de los principales problemas que existen en el uso de ésta técnica.

Valor nutritivo de los principales pastos pirenaicos

En la *figura 12.11* se han resumido los valores medios de digestibilidad, proteína y fósforo de las principales comunidades de pastos en los puertos pirenaicos a partir de datos de varios autores. Puede comprobarse que existen diferencias del valor nutritivo entre comunidades. Así por ejemplo, cabe destacar el alto porcentaje de digestibilidad de las majadas en junio. Durante todos los meses *Nardion strictae* tiene los valores más bajos de digestibilidad (excepto en junio). Por otro lado, *Primulion intricatae* y *Nardion strictae* son las

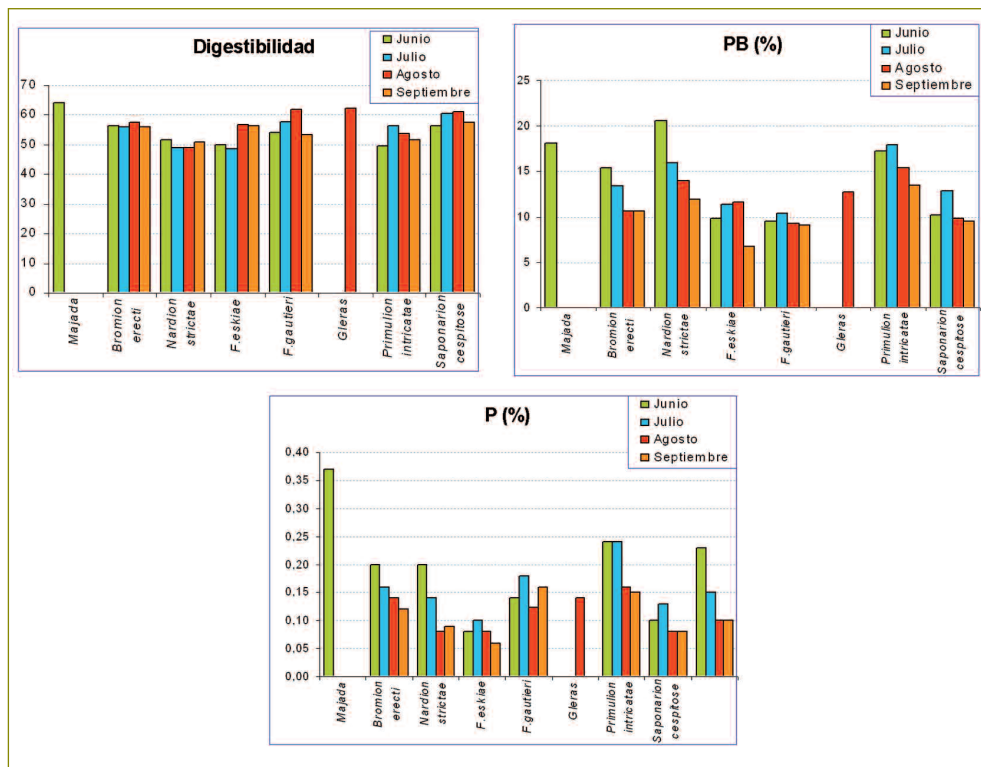


Fig. 12.11. Digestibilidad, contenido en proteína y fósforo de las principales comunidades pascícolas pirenaicas durante el periodo estival (en porcentaje de materia seca). Valores medios de varios trabajos (García-González *et al.* 2006). Las majadas incluyen las alianzas fitosociológicas *Rumicion pseudoalpini* y *Polygonion avicularis* y las gleras comprenden principalmente la alianza *Iberidion spathulatae*.

comunidades que tienen mayor contenido en proteína durante todos los meses. *Nardion strictae* se caracteriza por ser una comunidad de bajo valor nutritivo, pero el contenido en proteína puede ser alto si las muestras recolectadas contienen alta cantidad de *Trifolium alpinum* (especie característica de este tipo de pastos). Todas las comunidades tienen bajo contenido en P excepto *Primulion intricatae* y las majadas en junio. La primera comunidad es de pastos de elevada altitud, frecuentada por ovejas y sarríos y muy valorada por los pastores. Los altos valores en la segunda comunidad son consecuencia de la fertilidad acumulada en el suelo debida a los excrementos de los animales. La tendencia general observada en zonas pirenaicas consiste en que las comunidades afines a sustratos calizos y

de carácter mesófilo (como *Bromion erecti* y *Primulion intricatae*), poseen mayor valor nutritivo que las acidófilas (*Nardion strictae* y *Festucion eskiae*).

Para aquellas comunidades que había información suficiente se ha indicado la evolución mensual de los componentes nutricionales. Como puede observarse (figura 12.11), no existe una gran *variación temporal* en la digestibilidad de la materia seca de las principales comunidades pascícolas. En cambio, si hay marcadas diferencias en el contenido en proteína bruta y fósforo. Éstos últimos presentan máximos en junio (comunidades de baja altitud) o julio (comunidades altas), y su contenido desciende rápidamente después. Minson (1990) señala también un sostenimiento de los valores de digestibilidad duran-

te la época de crecimiento y semanas posteriores (denominado “plateau”), que podría deberse al valor constante de los carbohidratos solubles. El mantenimiento temporal relativo de los valores de digestibilidad merece ser destacado, ya que permite a los herbívoros disponer de un suministro de energía constante (aunque bajo), durante todo el período de pastoreo.

Requerimientos de los herbívoros

Las necesidades de mantenimiento de un animal se definen como la cantidad mínima de alimento (proteína, minerales, energía ó materia seca), necesario para mantener con vida a dicho animal si no realiza ninguna actividad. A estas necesidades se añaden las productivas, definidas para unos determinados niveles de producción. Existen varias escuelas que estudian y realizan propuestas sobre los valores de los requerimientos alimentarios de los animales domésticos. Cada una de ellas publica unos libros de referencia con numerosas tablas o estándares nutricionales. Destacan la inglesa con el Agricultural Research Council (ARC), la americana con el National Research Council (NRC), la francesa con el Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), la australiana con el Standing Committee on Agriculture (SCA).

	Vacas	Ovejas
PB	7,20	9,40
P	0,15	0,20
K	0,65	0,65
Ca	0,22	0,25
Mg	0,16	0,16
EM	7,8	9,2

Tabla 12.3 Requerimientos nutricionales para individuos en pastoreo en puertos estivales pirenaicos expresados en % de materia seca, excepto la energía metabolizable (EM) en MJ/kg MS. PB: Proteína bruta. (Adaptado a partir de NRC, 1985, 1996)

Como ejemplo, se han estimado los requerimientos nutricionales del ganado vacuno y ovino a partir de las recomendaciones del National Research Council (NRC, 1985, 1996), adaptado a las condiciones medias de los rebaños extensivos del Pirineo occidental-aragonés (tabla 12.3).

Los requerimientos se calcularon para vacas de carne adultas de 454 kg peso y 4,5 kg de pico máximo de leche, en un rebaño tipo con 60% de las vacas en el 5º mes y 40% en el 10º mes después del parto. Los requerimientos de las ovejas se estimaron para ovejas de 50 kg, en rebaños donde la mitad están en condiciones de mantenimiento y la otra mitad en las 15 primeras semanas de gestación. Los requerimientos así estimados se han comparado con los contenidos máximos durante el período vegetativo (desde junio a septiembre) y medios durante el período de pastoreo (desde julio a septiembre), de los diferentes nutrientes en las principales comunidades pascícolas de los Pirineos sobre sustrato calcáreo (García-González *et al.*, 2006).

Como puede observarse (figura 12.12), todas las comunidades cubren las necesidades mínimas en proteína bruta de vacas y ovejas, sin embargo, la mayor parte de comunidades no llega a cubrir las necesidades en energía metabolizable. Sólo *Bromion erecti* y *Saponarion caespitosae* alcanzan escasamente las necesidades en EM del ganado vacuno. El contenido en P es también deficitario en la mayoría de los pastos analizados, excepto en *Primulion intricatae* y en *Festucion gautieri* (*F. scopariae*) para las vacas. En *Bromion erecti*, *Nardion strictae* y *Bromion-Nardion* el contenido máximo en P cubriría las necesidades de vacas y ovejas, pero en estas comunidades este máximo se da en junio (figura 12.12), fuera del período de pastoreo estival. Los contenidos en Ca y K son excedentarios en todas las comunidades, mientras que los de Mg son deficitarios

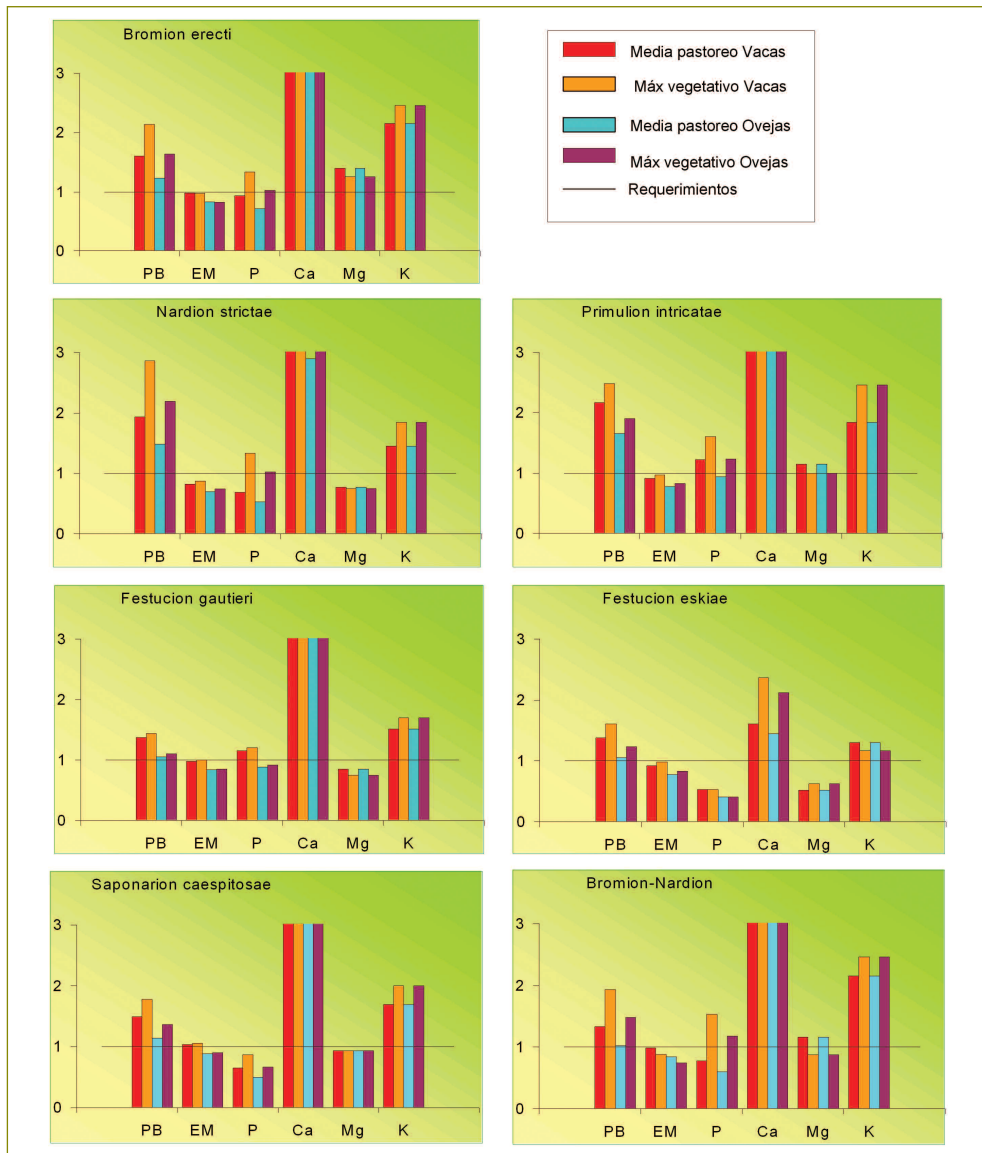


Fig. 12.12. Valores medios durante el período de pastoreo (julio a septiembre) y máximos durante el período vegetativo (junio a septiembre) de los diferentes nutrientes (proteína bruta, energía metabolizable y macrominerales) en cada comunidad pascícola, expresados en unidades de los requerimientos nutricionales para vacas y ovejas (según García-González et al., 2006).

en *Nardion strictae*, *Festucion eskiae*, *F. gautieri* y muy escasos en *Saponarion caespitosae*.

El aparente déficit en energía metabolizable en los pastos supraforestales pirenaicos para cubrir las necesidades de los animales domésticos ha sido señalado también por otros autores (Casasús et al., 1999). Los valores medios estimados en EM de las

comunidades analizadas oscilan entre 6,5 y 8 MJ/kg MS, frente a los 7,8 y 9,2 MJ/kg MS necesarios para vacas y ovejas respectivamente, según los estándares nutricionales (NRC, 1985; 1996). Casasús et al. (1999) estiman en 6,7 MJ/kg MS el contenido en EM de los pastos pirenaicos.

Si aparentemente los pastos de puerto pirenaicos son deficitarios en EM, P y parcialmente en Mg. ¿porqué han sido y son tan apreciados por los ganaderos?. Varias respuestas pueden explicar esta aparente contradicción. Los estándares nutricionales (ARC, NRC, INRA) calculan los requerimientos para animales de razas mejoradas, de los que se espera niveles de producción medios o altos. Quizás esta situación no sea la más adecuada para ser aplicada al ganado extensivo, a los que se les suele exigir un menor nivel de producción (Bokdam y Wallis de Vries, 1992). Por otra parte, los pesos vivos de las razas pirenaicas suelen ser más bajos (sobre todo en el pasado), que los utilizados en este ensayo para calcular sus requerimientos. Otro factor muy

importante, es que el valor nutricional de las comunidades pascícolas se ha estimado a partir de muestras completas de hierba tomadas aleatoriamente en cercados de exclusión (García-González *et al.*, 2006). Este material es muy probablemente de una calidad inferior al realmente ingerido por los animales, puesto que éstos practican un pastoreo selectivo (*capítulo 3*). Por todo ello, este análisis tiene solo un carácter aproximativo, aunque puede ser útil en términos comparativos de las comunidades de pasto. En cuanto al déficit de minerales, en la actualidad, los ganaderos suplen las posibles deficiencias minerales, suministrando en puerto bolas de sal con suplementos minerales, que son lamidas por los animales.

Referencias bibliográficas

- ARC. 1980.- *The nutrient requirements of ruminant livestock*. 351 pp. CAB International, Oxon, UK.
- Beever, D.E., Offer, N. y Gill, M. 2000.- The feeding value of grass and grass products. In: A. Hopkins (ed.), *Grass: Its production & utilization*, pp. 140-195. British Grassland Society & Blackwell Sci., Oxford, UK.
- Blaxter, K.L. 1964.- *Metabolismo energético de los rumiantes*. 314 pp. Acribia, Zaragoza.
- Bliss, L.C. 1962.- Caloric and lipid content in alpine tundra plants. *Ecology* 43: 753-757.
- Bokdam, J. y Wallis de Vries, M.F. 1992.- Forage quality as a limiting factor for cattle grazing in isolated dutch Nature Reserves. *Conservation Biology* 6: 399-408.
- Casasus, I., Villalba, D., Blanch, M., Sanz, A., Ferrer, R. y Revilla, R. 1999.- Cattle and sheep performance during summer grazing on high mountain ranges in extensive production systems. *Options méditerranéennes B-27*: 235-244.
- Chapin III, F.S., Cleve, K.V. y Tieszen, L. 1975.- Seasonal nutrient dynamics of tundra vegetation at barrow, Alaska. *Arctic and Alpine Research* 7: 209-226.
- Cherney, D.J.R. 2000.- Characterization of forages by chemical analysis. In: D.I. Givens, E. Owen, R.F.E. Axford and H.M. Omed (eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*, pp. 281-300. CAB International, Wallingford, UK.
- Church, D.C. 1988.- *El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición*. 641 pp. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza.
- Coppock, D.L., Swift, D.M. y Ellis, J.E. 1986.- Seasonal nutritional characteristics of livestock diets in a nomadic pastoral ecosystem. *Journal of Applied Ecology* 23: 585-596.
- Cozzolino, D. 2002.- Uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en el análisis de alimentos para animales. *Agrociencia* 6: 25-32.
- Fondevila, M. y Barrios, A. 2001.- La técnica de producción de gas y su aplicación al estudio del valor nutritivo de los forrajes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 35: 197.
- Gálvez, J.F. y Roselló, B. 1971.- *Digestibilidad de los alimentos para el ganado*. 141 pp. Ministerio de Agricultura, Madrid.
- García-González, R., Aldezabal, A., Garin, I. y Marinas, A. 2006.- Valor nutritivo de las principales comunidades de pastos de los Puertos de Góriz (Pirineo Central). *Pastos* 35: 77-103.
- Givens, D.I., Owen, E. y Adesogan, A.T. 2000.- Current procedures, future requirements and the need for standardization. In: D.I. Givens, E. Owen, R.F.E. Axford and H.M. Omed (eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*, pp. 449-474. CAB International, Oxon.
- Hanley, T.A., Robbins, C.T., Hagerman, A.E. y McArthur, C. 1992.- Predicting digestible protein and digestible dry matter in tannin-containing forages consumed by ruminants. *Ecology* 73: 537-541.
- Huston, J.E. y Pinchak, W.E. 1991.- Range Animal Nutrition. In: R.K. Heitschmidt and J.W. Stuth (eds.), *Grazing Management. An Ecological Perspective*, pp. 27-63. Timber Press, Inc., Portland.

- INRA. 1990.- *Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos*. 437 pp. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Körner, C. 1999.- *Alpine Plant Life. Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems*. 338 pp. Springer-Verlag, Berlin.
- Larcher, W. 1995.- *Physiological Plant Ecology*. 506 pp. Springer, Austria.
- Marinas, A., García-González, R. y Fondevila, M. 2003.- The nutritive value of five species occurring in the summer grazing ranges of the Pyrenees. *Animal Science* 76: 461-469.
- Marinas, M. y García González, R. 2006.- Preliminary data en nutritional value of abundant species in supraforestal Pyrenean pastures. *Pirineos* 161: 85-109..
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. y Schneider, W. 1979.- The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J. Agric. Sci., Camb.* 93: 217-222.
- Minson, D.J. 1990.- *Forage in ruminant nutrition*. 483 pp. Academic Press, San Diego, CA.
- Mirik, M., Norland, J.E., Crabtree, R.L. y Biondini, M.E. 2005.- Hyperspectral one-meter-resolution remote sensing in Yellowstone National Park, Wyoming: I. Forage nutritional values. *Range-land Ecology & Management* 58: 452-458.
- NRC. 1985.- *Nutrient Requirements of Sheep*. pp. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- NRC. 1996.- *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 248 pp. National Academy Press, Washington, D.C.
- Robbins, C.T. 1993.- *Wildlife feeding and nutrition*. 352 pp. Academic Press. 2nd ed., New York & London.
- Theodorou, K.M., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. y France, J. 1994.- A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology* 48: 185-197.
- Tilley, J.M.A. y Terry, R.A. 1963.- A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* 18: 104-111.
- van Soest, P.J. 1994.- *Nutritional ecology of the ruminant*. 476 pp. Cornell University, New York.
- Wallis de Vries, M.F. 1995.- Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand plucking method. *Journal of Range Management* 48: 370-375.