









Producción de gas de alimentos incubados *in vitro* con líquido ruminal de bovinos con diferente consumo residual de alimento

Manuela E. Villanueva Lara , Hugo Bernal Barragán¹ , Nydia C. Vásquez Aguilar ,
Humberto González Rodríguez² , Nelson Manzanares Miranda³ ,
Arquímedes Cruz López⁴ 

Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León.
San Nicolás de los Garza, N.L., México.

Gas production of feed incubated *in vitro* with rumen fluid from bovines with different residual feed intake

Abstract. The objective of this study was to determine the *in vitro* gas production (PGIV) of two diets with contrasting proportions of concentrate (C) and forage (F) (80C:20F and 80F:20C), incubated with rumen fluid from animals with high or low Residual Feed Intake (RFI). From the PGIV, the *in vitro* digestibility of organic matter (DIVMO) and the metabolizable energy content (ME) were calculated. Four animals with high RFI and 4 cattle with low RFI were selected from the results obtained from a feeding trial of 68 animals for 77 days, using the Grow Safe© system. Rumen fluid extracted from each of these animals was used as inoculum to incubate the two diets in 100 mL graduated glass syringes (n=3). The PGIV, IVMOD and ME variables were higher ($P < 0.05$) in the diets with high concentrate content; however, no significant differences ($P > 0.05$) were recorded in these variables due to the classification of the animals in High RFI or Low RFI. It is concluded that the digestibility of the diets is similar between bovines with contrasting RFI.

Key words: residual feed intake, gas production, cattle, *in vitro* digestibility, metabolizable energy.

Resumen. El propósito de esta investigación fue determinar la producción de gas *in vitro* (PGIV) de dos dietas con proporciones contrastantes de concentrado (C) y forraje (F) (80C:20F y 80F:20C), incubados con líquido ruminal proveniente de animales con alto o bajo Consumo Residual de Alimento (RFI). A partir de la PGIV se calculó la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) y el contenido de energía metabolizable (EM). Se seleccionaron 4 bovinos con RFI alto y 4 bovinos con RFI bajo a partir de los resultados obtenidos de una prueba de alimentación de 68 bovinos durante 77 días, utilizando el sistema Grow Safe©. Líquido ruminal extraído de cada uno de estos animales, fue utilizado como inóculo para incubar las dos dietas en jeringas de vidrio (n=3) graduadas de 100 mL. Las variables PGIV, DIVMO y EM fueron mayores ($P < 0.05$) en las dietas con alto contenido de concentrado; sin embargo, no se registraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en esas variables debidas a la clasificación de los animales en RFI Alto o RFI Bajo. Se concluye que la digestibilidad de las dietas es similar entre bovinos con RFI contrastante.

Palabras Clave: consumo residual de alimento, producción de gas, bovinos, digestibilidad *in vitro*, energía metabolizable.

Produção de gases de rações incubadas *in vitro* com fluido ruminal de bovinos com diferentes consumos de ração residual

Resumo. O objetivo desta pesquisa foi determinar a produção de gás *in vitro* (PGIV) de duas dietas com proporções contrastantes de concentrado (C) e forragem (F) (80C:20F e 80F:20C), incubadas com fluido ruminal de animais com alta ou baixa ingestão alimentar residual (RFI). A partir do PGIV, foram calculados a digestibilidade *in vitro* da matéria

¹ Autor para la correspondencia: hugo.bernalbr@uanl.edu.mx

² Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León.

³ Centro de Investigación en Producción Agropecuaria (CIPA-UANL), Universidad Autónoma de Nuevo León.

⁴ Facultad de Ingeniería Civil, Universidad Autónoma de Nuevo León.

orgânica (DIVMO) e o conteúdo de energia metabolizável (EM). 4 bovinos com alto CAR e 4 bovinos com baixo CAR foram selecionados a partir dos resultados obtidos em um experimento de alimentação de 68 bovinos por 77 dias, utilizando o sistema Grow Safe®. O líquido ruminal extraído de cada um desses animais foi utilizado como inóculo para incubar as duas dietas em seringas de vidro graduadas de 100 mL (n=3). As variáveis PGIV, IVMOD e EM foram maiores ($P < 0,05$) nas dietas com alto teor de concentrado; no entanto, não foram registradas diferenças significativas ($P > 0,05$) nessas variáveis devido à classificação dos animais em Alto CAR ou Baixo CAR. Conclui-se que a digestibilidade das dietas é semelhante entre bovinos com CAR contrastante.

Palavras-chave: consumo alimentar residual, produção de gases, bovinos, digestibilidade *in vitro*, energia metabolizável.

Introducción

El registro preciso del consumo de alimento tiene importancia fundamental para determinar la eficiencia con la que son utilizados los nutrientes y la energía del alimento para animales en crecimiento. Tradicionalmente, la conversión alimenticia (consumo de alimento:ganancia de peso) o su inverso, la eficiencia alimenticia (ganancia de peso:consumo de alimento), han sido empleadas para evaluación de la utilización de alimentos. El desarrollo de sistemas computarizados modernos ha hecho posible registrar el consumo individual de alimentos en bovinos en tiempo real, y con esta información se ha podido establecer una medida individualizada de eficiencia alimenticia denominada Consumo Residual de Alimento (CRA) o Residual Feed Intake (RFI), medida de eficiencia alimenticia, que involucra diversos procesos biológicos y representa uno de los factores económicos con mayor impacto en los sistemas ganaderos (Kenny *et al*, 2018).

El concepto de consumo residual de alimento incorpora la medición individual del consumo de alimento de los

animales, a la medición de la eficiencia de utilización del alimento (Berry y Crowley, 2013) para poder clasificar los animales, de acuerdo con la diferencia del consumo real respecto al consumo esperado, en individuos con RFI alto (ineficiente utilización de alimento) o con RFI bajo (eficiente utilización de alimentos). La selección de animales con RFI bajo permitiría a los ganaderos mejorar la productividad, debido a que podrían contar con más animales, que con menor cantidad de alimento consumido puedan cubrir los requerimientos nutricionales para un adecuado crecimiento. Esto tendría un impacto positivo en la reducción de las emisiones de gases (CO_2 y CH_4) producidos en el rumen (Herd *et al.*, 2009).

En el presente estudio se hicieron mediciones comparativas de producción de gas al incubar *in vitro* alimentos representativos de ruminantes, con líquido ruminal de bovinos con RFI bajo o RFI alto y conocer su correlación con digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y su contenido de energía del alimento.

Materiales y Métodos

Un total de 68 bovinos raza Simmental se alojaron en las instalaciones del Centro de Investigación en Producción Agropecuaria (CIPA) de la UANL, para llevar a cabo la determinación del consumo individual de alimento durante un periodo de 77 días, registrando además los pesos (kg) de cada animal al inicio y al final de la prueba. El alimento a base de concentrado y forraje, con 12.9% de proteína cruda, 3.4% de grasa cruda y 8.5% de fibra cruda, se ofreció *ad libitum* en comederos automáticos equipados con el sistema GrowSafe (GrowSafe Systems, Canada), para registrar diariamente el consumo individual de alimento de animales alojados en corrales grupales. Se estimó el consumo de alimento esperado de cada animal, a partir de su aumento de peso promedio. La ingesta de alimento real menos la ingesta esperada de alimento correspondió al RFI (Sainz y Paulino, 2004).

De la prueba de alimentación se eligieron 8 bovinos de raza Simmental con RFI contrastante. Cuatro animales

tuvieron RFI Alto y 4 animales un RFI Bajo. De cada uno de los 8 animales seleccionados en la prueba de alimentación, se obtuvieron 1000 ml de inóculo ruminal, empleando una sonda oro-esofágica (Selekt, Nimrod Veterinary Products, UK), en procedimiento realizado por un Médico Veterinario Zootecnista capacitado para ello (Dirksen y Smith (1986) y Martín *et al.*, (2005). El inóculo ruminal fue purgado con CO_2 para mantener anaerobiosis, y se conservó a 39°C , para su posterior manipulación (procedimiento de colecta del líquido ruminal fue aprobado por el Comité de Bioseguridad e Higiene de la Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia UANL (ID CSBH: 072).

Se elaboraron dos dietas experimentales para ser utilizadas en las incubaciones *in vitro*: dieta 1: 80% de concentrado y 20% de forraje; dieta 2: 20% de concentrado y 80% de forraje. El forraje utilizado consistió en una mezcla con 50% heno de zacate bermuda (*Cynodon dactylon* L.) y 50%

heno de zacate Johnson (*Sorghum halepense*). El concentrado utilizado consistió en 42% harina de soya y 58% sorgo. En el Laboratorio de Nutrición y Calidad de

Alimentos, Facultad de Agronomía, UANL se caracterizaron las dietas experimentales (Tabla 1).

Tabla 1. Valor nutritivo de dietas experimentales.

Parámetro (% MS)	Dietas Experimentales	
	Dieta 1 (80C:20F)	Dieta 2 (20C:80F)
Cenizas (%)	7.34	10.51
Proteína Cruda (PC)	23.47	14.22
Extracto Etéreo (EE)	1.58	1.83
Fibra Detergente Neutro (FDN)	33.03	60.24
Fibra Detergente Ácido (FDA)	17.24	35.89
Lignina (LAD)	1.42	1.62
Hemicelulosa	15.79	24.35
Celulosa	15.82	34.27

La producción de gas *in vitro* se determinó en el Laboratorio de Química de la Facultad de Ciencias Forestales, UANL. Para ello se incubaron 200 mg de cada muestra, en jeringas de vidrio de 100 ml (división mínima 1 mL), de acuerdo con la metodología propuesta por Menke y Steingass (1988), el análisis se realizó por triplicado.

Digestibilidad y Energía metabolizable

Se utilizó el rendimiento neto de la producción gas a las 24 h (mL/200 mg), para calcular la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO), y el contenido de energía metabolizable (EM) de los alimentos incubados, empleando las ecuaciones propuestas por Menke y Steingass (1988).

$$\text{Alta en concentrado (MJ/kg MS)} = 1.06 + 0.157 \text{ PG} + 0.084 \text{ PC} + 0.22\text{FC} - 0.081\text{Cen}$$

$$\text{Alta en forraje (MJ/kg MS)} = 2.20 + 0.136 \text{ PG} + 0.057 \text{ PC} + 0.0029 \text{ FC}^2$$

$$\text{DIVMO (\%)} = [0.889 (\text{PG}24\text{h}) + 0.448(\text{PC}) + 0.651 (\text{Cen}) + 14.88]$$

Análisis estadístico

Se empleó un diseño factorial 2x2, con 2 tipos de alimentos (Dieta 1 y Dieta 2) y con 2 tipos de líquido

ruminal (RFI alto y RFI bajo), con el software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences).

Resultados y Discusión

En la tabla 2 se muestran los resultados de la prueba de alimentación que clasifican a los animales muestreados

para tomar 4 animales con RFI Bajo y 4 animales con RFI Alto

Tabla 2. Promedios de los 4 bovinos con RFI Bajo y 4 bovinos con RFI Alto, describiendo su RFI, peso inicial, peso final, su ganancia de peso, la ingesta de materia seca junto con la conversión alimenticia.

	RFI	Peso inicial	Peso final	ADP	CMS	F:G
RFI bajo	-0.87	281.46	409.67	1.67	8.24	4.95
RFI alto	1.23	270.45	391.53	1.57	9.99	6.39

ADP: Aumento de peso diario, CMS: Consumo de materia seca,

F:G: Conversión alimenticia (consumo de alimento:ganancia de peso)

Los animales con RFI Alto tuvieron una ingesta de materia seca más elevada que los animales con RFI Bajo con diferencia en promedio de 1.75 kg/día, haciendo que sea mucho más rentable los bovinos con RFI Bajo como lo afirman Bonilha *et al.*, 2017 y Richardson y Herd (2004).

Los valores promedio de Producción de gas *in vitro* a las 3, 6, 9, 12 y 24 horas correspondiente a cada inóculo ruminal de RFI contrastante y las dos dietas evaluadas se muestran en la Figura 1. Al incubar la dieta alto en concentrado (80C:20F) con el inóculo ruminal de

animales con RFI Bajo se registró una mayor producción de gas a las 6 horas ($P<0.003$), mientras que la producción de gas a las 3, 9, 12 y 24 horas fue similar ($P>0.05$) entre animales con RFI Alto y RFI Bajo (Figura 1).

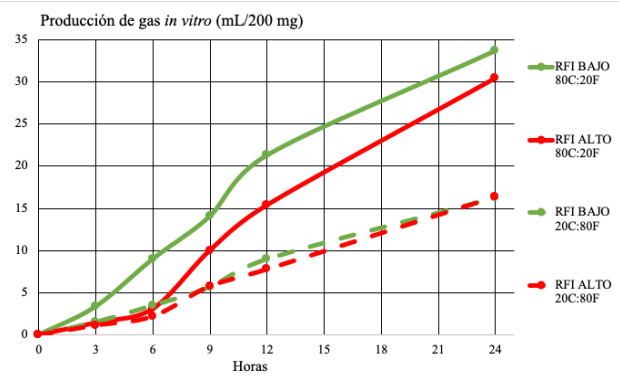


Figura 1. Producción de gas *in vitro* (mL/200 mg) de dietas con 80% (C) y 20% (F; línea continua) y con dietas de 20% de Concentrado y 80% de Forraje (línea punteada), incubados en líquido ruminal de bovinos de RFI bajo (líneas verdes) y RFI alto (líneas rojas).

Los resultados del análisis de varianza indicaron que no hubo interacción significativa Dieta x RFI del líquido ruminal para las variables medidas, por lo que se describen los efectos de los factores principales. Se observó que la producción de gas de la Dieta 1 (80C:20F) fue mayor ($P<0.001$) a la registrada para la Dieta 2 (20C:80F) (Tabla 3) en concordancia con los resultados publicados previamente (Bernal *et al.*, 2022), en los que se describe que la producción de gas de alimentos incubados *in vitro* es mayor en alimentos con mayor contenido de energía.

Las estimaciones calculadas a partir de la producción de gas *in vitro* para digestibilidad de la materia orgánica y el contenido de energía metabolizable también resultaron mayores para la dieta de 80% de Concentrado y 20% de forraje. Resultados similares a ello habían sido reportado previamente (Melesse *et al.*, 2017).

La producción de gas *in vitro* a las 24 horas de incubación fue similar ($P>0.05$) en los alimentos incubados con líquido ruminal ya sea de bovinos con RFI alto o RFI

Tabla 3. Valores medios de Producción de gas a 24 h (ml/200 mg), EM (Mcal/kg) y DIVMO (%) de dos dietas evaluadas con inóculo ruminal de bovinos con RFI Alto y RFI Bajo.

	PGIV (ml/200mg)	EM (Mcal/kg)	DIVMO (% MS)
Dieta			
1 (80C:20F)	32.73 ^a	1.89 ^a	59.27 ^a
2 (20C:80F)	15.89 ^b	1.24 ^b	42.22 ^b
RFI			
Alto	23.64	1.54	50.15
Bajo	24.98	1.60	51.34
EEM	2.367	0.083	2.106
P Dieta	0.001	0.001	0.001
P RFI	0.371	0.369	0.370
P Dieta x RFI	0.814	0.767	0.813

^{a,b} Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$)

bajo (Tabla 3). Este resultado concuerda con los resultados de Freetly *et al.*, (2015), quienes determinaron que la producción de metano fue similar entre animales con RFI alto y bajo.

No hubo diferencias ($P>0.05$) en la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica ni en el contenido de energía metabolizable del alimento asociadas con la procedencia del inóculo ruminal (RFI alto o bajo) (Tabla 3).

Conclusiones

La producción de gas *in vitro*, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y el contenido de energía metabolizable de las dietas con mayor contenido de concentrado fueron mayores a las registradas para los alimentos con 20% de Concentrado y 80% de forraje.

materia orgánica y el contenido de energía metabolizable de las dos dietas incubadas fueron similares al ser incubadas con líquido ruminal de bovinos con RFI alto y RFI bajo, lo que permite inferir que las diferencias en utilización de nutrientes ocurren en el metabolismo celular de los animales con RFI contrastante, mientras que la degradación ruminal de alimentos es similar.

La producción de gas *in vitro*, la digestibilidad *in vitro* de la

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la Beca otorgada a MEVL para la realización de sus estudios de Maestría en Ciencia Animal. Al Programa de Apoyo a la Investigación Científica y

Tecnológica (PAICYT) de la UANL. Al Posgrado Conjunto en Ciencia Animal de Fac. de Agronomía y Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia UANL.

Conflicto de intereses: Los autores manifiestan que no existe ningún tipo de conflicto de intereses.

Literatura Citada

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Bernal Barragán H., Perrusquia, V.M., Vásquez, N.C., González, H. 2022. Determination of *in vitro* gas production, nutrient content and metabolizable energy of forages and supplements for sheep and goats. *Ciencia UANL*. 25(115): 41-47
- Berry DP, J.J. Crowley. 2013. Cell biology symposium: genetics of feed efficiency in dairy and beef cattle. *Journal of Animal Science* 91: 1594–1613.
- Bonilha, S.F.M., R.H. Branco, M.E.Z. Mercadante. 2017. Digestion and metabolism of low and high residual feed intake Nellore bulls. *Trop. Anim. Health Prod.* 49: 529–535.
- Dirksen, G., M.C. Smith. 1986. Acquisition and analysis of bovine rumen fluid. *The bovine practitioner* 22.
- Fitzsimons C., D.A. Kenny, M. McGee. 2014. Visceral organ weights, digestion and carcass characteristics of beef bulls differing in residual feed intake offered a high concentrate diet. *Animal* 8: 949–959.
- Freetly H.C., A.K. Lindholm-Perry, K.E. Hales, T.M. Brown-Brandl, M. Kim, P.R. Myer, J.E. Wells. 2015. Methane production and methanogen levels in steers that differ in residual gain. *J. Anim. Sci.* 93: 2375-2381
- Herd, R.M., P.F. Arthur. 2009. Physiological basis for residual feed intake. *J. Anim. Sci* 87(14, Suppl): E64–E71.
- Kenny D.A., C. Fitzsimons, S.M. Waters, M. McGee. 2018. Invited review: Improving feed efficiency of beef cattle – the current state of the art and future challenges. *Animal*, 12(9):1815–1826.
- Martín, E., E. Pérez, S. Cañón, J. Rodríguez, F. Rodríguez. 2005. Ruminant anaerobic microorganism recovery using an experimental oro-ruminal probe. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 6(1): 39-42.
- Melesse, A., H. Steingass, M. Schollenberger, M. Rodehutschord. 2017. Screening of common tropical grass and legume forages in Ethiopia for their nutrient composition and methane production profile *in vitro*. *Tropical Grassland*. 5(3):163-175.
- Menke, K.H., H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7-55.
- Richardson E.C., R.M. Herd. 2004. Biological basis for variation in residual feed intake in beef cattle. 2. Synthesis of results following divergent selection. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 44: 431-440.
- Sainz, R.D, P.V. Paulino. 2004. Residual Feed Intake. UC Davis: Sierra Foothill Research and Extension Center. Retrieved: <https://escholarship.org/uc/item/9w93f7k>