

NOTAS TECNICAS

DETERMINACION DEL HABITO DE CONSUMO EN OVINOS MEDIANTE ANALISIS MICROHISTOLOGICO DE FECAS

FERNANDO BÓRQUEZ L.¹, JORGE MIRA J.², HUGO GUTIÉRREZ D.³

Departamento de Ganadería y Producción Pratense
Facultad de Agronomía, Universidad de Chile
Casilla 1004, Santiago, Chile.

RESUMEN

Mediante análisis microhistológico de fecas, se estimó el hábito de consumo de diferentes dietas basadas en forraje seco, por ovinos durante un período de 18 días. Las muestras de forraje ofrecido y fecas se analizaron cuantitativamente según técnica de Spark y Malecheck (1968) modificada. Simultáneamente se realizó una determinación cuantitativa por métodos directos e indirectos, estimando la composición porcentual de las dietas se encontró que el porcentaje en que las distintas especies se incluyeron en la dieta, está altamente correlacionado con los porcentajes del análisis microhistológico de las fecas y de los forrajes ofrecidos. No existieron diferencias significativas entre las ecuaciones de regresión calculadas y la ecuación teórica ideal, lo mismo que entre el método de estimación directa y el indirecto. Se demostró que la técnica de análisis microhistológico es adecuada para las determinaciones cuantitativas y cualitativas de la dieta de rumiantes con aplicación en especies domésticas y silvestres.

SUMMARY

The intake of different fodder diets by sheep over 18 days was estimated by means of microhistological analyses of feces. Fodder and fecal samples were quantitatively analysed according to spark and malecheck's modified technique (1968). Quantitative evaluations were also made by means of the direct and indirect methods to determine the diet composition. The rates at which the different species were included in the diet were found to be highly correlated with the percentages from the microhistological analyses of feces and fodder fed. No significant differences were found between regression equations and the ideal theoretical equation between the direct and indirect estimation methods. Microhistological analyses proved adequate for quantitative and qualitative determinations of ruminant diets for both domestic and wild species.

INTRODUCCION

El estudio de los hábitos alimentarios de los animales tanto domésticos como silvestres cobra cada vez más importancia, para realizar un manejo adecuado de los recursos alimenticios y de los animales.

Para el estudio de los hábitos de consumo se han utilizado métodos que sólo incluyen observaciones de composición botánica de las pradera antes y después de su utilización,

y otros basados en los materiales ya seleccionados por el animal del cual se obtienen muestras del tracto digestivo y fecas.

La identificación se ha hecho separando y cuantificando los componentes botánicos con ayuda de una lupa, basados en diferencias de textura y color. Últimamente se han desarrollado técnicas de análisis microhistológicos, donde la identificación de las especies consumidas se hace mediante las características de sus epidermis.

¹ Ing. Agr., Mg. Sci., Prof. Departamento de Ganadería y Producción Pratense, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile.

² Ing. Agr., Prof. Departamento de Ganadería y Producción Pratense, Facultad de Agronomía, Universidad de Chile.

³ Ing. Agr.

Recepción de originales: 25/VII /79.

Avances en Producción Animal, 4(2):135-141, 1979.

Con el tiempo han ido evolucionando los sistemas para estimar el consumo de los animales. En algunas experiencias se intentó estimar el tipo de consumo, por un análisis del contenido del tracto digestivo sacrificando al animal (Baumgartner y Martin, 1939), especialmente en estudios con roedores y animales silvestres que tienen una alta población. Posteriormente se impuso el uso de fistula esofágica y ruminal, que proporcionan información precisa y confiable, pero presentan inconvenientes (Van Dyne y Torell, 1964; Nelson, 1962), como son la necesidad de contar con animales fistulados con los problemas de manejo que ello implica, alteraciones en el hábito de consumo, limitaciones de uso en animales que ramonean, etc. (Lesperance et al., 1963). Además, es poco práctico en animales que se encuentran en condiciones extensivas y animales silvestres. Ello condujo a desarrollar el análisis microhistológico de fecas, el cual permite obtención de muestras en condiciones de campo donde el uso de fistula no es recomendable (Hercus, 1960), no se necesita fistular a un animal, menor riesgo de muerte etc.

El análisis de fecas ha sido usado para estudiar la dieta de diferentes especies como quokkas (*Setonix brachyurus*) en Australia (Storr, 1961); ciervo mula (*Odocoileus hemionus*) (Hansen y Dearden, 1975); ciervo rojo (*Cervus elaphus*), gamuza (*Rupicapora rupicapora*) y en huemules (*Hippocamelus bisulcus*) en Chile (Colomes, 1978).

El objetivo de este estudio ha sido probar la metodología y grado de confianza del análisis microhistológico de fecas, como una forma de estimar el hábito de consumo en ovinos.

MATERIALES Y METODOS

El presente ensayo se realizó en la Facultad de Agronomía, Universidad de Chile, entre septiembre de 1976 y enero de 1977.

Se utilizaron capones Merino Precoz Francés, de 3 a 4 años de edad, estabulados en jaulas individuales con piso ranurado los que fueron alimentados con seis dietas diferentes (4 animales por dieta). Dichas dietas estaban compuestas por heno de alfalfa, paja de trigo y paja de poroto en niveles variables, las que fueron picadas para lograr una mayor homogeneidad de la mezcla y evitar posterior selección por parte del animal. La proporción en

que se ofrecieron las dietas se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1
PROPORCIÓN DE LOS FORRAJES EN CADA UNA DE LAS DIETAS (%)

Ingredientes	Dietas					F
	A	B	C	D	E	
Heno de alfalfa	10	20	30	40	50	60
Paja de trigo	30	30	30	30	30	30
Paja porotos	60	50	40	30	20	10

El período experimental constó de tres etapas:

a) Acostumbramiento: tuvo una duración de 15 días, durante el cual los animales consumieron la dieta experimental *ad libitum*, y se midió el consumo individual. Se estimó que en este lapso se produciría una máxima eliminación de los residuos de alimentos del tracto digestivo, ingeridos con anterioridad.

b) Recolección: se inició a continuación de la etapa anterior y tuvo una duración de ocho días. A los animales se les ofreció una cantidad de alimentos equivalentes al 80% del consumo determinado en el período anterior, para evitar selección y rechazo. Se tomaron muestras del forraje ofrecido y de fecas (con ayuda de arneses recolectores) los días 1-2, 4-5 y 7-8, obteniendo así tres muestras por animal. De las fecas recolectadas se obtuvo una submuestra equivalente al 10% de su peso, las que posteriormente se secaron en una estufa de aire forzado a 65°C por 48 horas.

c) Identificación de las dietas: este trabajo comprendió entrenamiento inicial, en el cual se hicieron preparaciones de referencia de cada uno de los forrajes ofrecidos, de manera de familiarizarse con las estructuras epidermales de las especies incluidas en la dieta. En una segunda etapa se hizo el estudio cualitativo y cuantitativo de las muestras de forrajes ofrecidos y fecas. Todas las observaciones se hicieron en un lanámetro con 40 aumentos.

La preparación de las muestras por observar se hicieron empleando el método desarrollado por Storr (1961), modificado por Sudzuki*.

*Fusa Sudzuki, Ing. Agr. Universidad de Chile, Facultad de Agronomía, Casilla 1004, Santiago. Comunicación personal, 1975.

Preparaciones de referencia: se prepara con epidermis de tallo y hojas de cada especie por separado.

Las plantas se cortaron en trozos de medio centímetro aproximadamente para ser sometidos a la acción de una solución maceradora que puede ser hidróxido de sodio (soda) por algunos minutos, o bien, dependiendo de la planta, con una solución en caliente de dicromato de potasio y ácido nítrico al 10% en partes iguales, y así lograr desprender la epidermis del resto del mesófilo. Separada la epidermis se lava abundantemente con agua para arrastrar los restos de ácido. En seguida, separada ya las epidermis, si es necesario son tratadas por tiempo variable con solución comercial (clorex) de hipoclorito de sodio para lograr un blanqueo de la epidermis. Se vuelve a lavar cuidadosamente y se procede a teñir con cristal violeta al 2% por tiempo variable y luego, sobre éste, se tiñe con azul de metileno.

Los trozos de epidermis ya teñidos, se montaron en un portaobjeto sobre una solución de glicerina más fenol y se sellaron con parafina sólida para evitar su deshidratación.

Preparación de las muestras de fecas: de cada muestra de fecas se sacó una submuestra de 10 a 15 g que fue sometida al mismo procedimiento ya descrito para las preparaciones de referencia. El tiempo de maceración empleado fue el promedio de los usados para las preparaciones de referencia.

En el montaje se tuvo especial cuidado de lograr una distribución uniforme del material sobre el portaobjeto que, según Spark y Malecheck (1968) influye mucho en la precisión del método.

Para la diferenciación cualitativa de las especies consumidas, este método se basa en la existencia de compuestos como la lignina, ceras y otros, comunes en la dieta de los rumiantes, que tienen muy bajos valores de digestibilidad, los que se encuentran en gran cantidad en la epidermis de los tejidos vegetales consumidos por el animal, especialmente en hojas y tallos, por lo cual hay estructuras anatómicas de referencia para reconocer las diferentes especies vegetales en las fecas, las que fueron consumidas por el animal, que según Storr (1967) son las siguientes:

a) *Formas, tamaño e inclusiones de las células epidermales:* las de dicotiledoneas son

típicamente hexagonales con un mayor o menor grado de redondeamiento. En monocotiledoneas son alargadas y rectangulares.

b) *Orientación:* en las monocotiledoneas las células epidermales están dispuestas en filas paralelas a la nerviación y eje de las hojas.

c) *Estomas:* pueden ser diferenciados por su forma, tamaño, distribución y número, tamaño de las células de guarda y presencia de células subsidiarias.

d) *Tricomas:* los hay de distintas formas y tamaños: monocelulares, dicelulares y tricelulares. Se desprenden con suma facilidad, por lo que se encuentran en gran cantidad en las fecas.

De esta forma puede reconocerse con certeza la epidermis de cualquier planta consumida en un 5% o más de la dieta (Free *et al.*, 1969). Las muestras de fecas deben ser frescas para evitar descomposición y ataque de aves o insectos (Storr, 1961; Williams, 1969). Su conservación se hace secándola en estufa de aire forzado (Storr, 1961), congelándola o bien en soluciones de formalina o alcohol (Ward, 1970).

Para el posterior estudio cuantitativo se probaron dos métodos:

a) *Método directo:* se determina la frecuencia relativa (FR), que Free *et al.* (1969) definen como "el número de partículas identificadas de una especie expresada como porcentaje del total de partículas identificadas", que es un buen estimador del porcentaje en que las especies fueron incluidas en la dieta.

Para determinar la FR se realizaron cinco preparaciones por muestra y en cada una se ubicaron veinte campos al azar, anotando el número de veces en que las especies fueron identificadas en cada campo.

Se calculó la Frecuencia Relativa con la siguiente relación:

$$FR_i = \frac{N_i \times 100}{\sum N_i} \text{ donde}$$

FR_i = Frecuencia Relativa de una especie
N_i = Número de partículas de una especie identificadas en 100 campos

b) *Método indirecto*: la estimación del porcentaje de inclusión de una especie se hace mediante la determinación de la Densidad Relativa (D R) (Spark y Malechek, 1968; Hansen y Reid, 1975).

Para el cálculo de la D R previamente deben hacerse otras determinaciones. Así, en la identificación de especies al microscopio se obtiene la Frecuencia Relativa, en porcentaje, que los autores mencionados definen como "el número de campos en que una especie es identificada en 100 campos", por lo tanto, al analizar las muestras solamente se anota la presencia o ausencia de las especies en un campo y no la totalidad de partículas identificables como es el caso anterior.

A partir de la Frecuencia Relativa (%), se calcula la Densidad Absoluta (D) de partículas por campo usando la fórmula (Hansen y Reid, 1975):

$F = 100(1 - e^{-D})$, donde

F = Frecuencia Relativa (%)

e = constante (2,71828)

D = Densidad Absoluta

Finalmente, se calcula la Densidad Relativa de cada especie con la siguiente relación:

$$D R = \frac{D_i}{\sum D_i} \times 100, \text{ donde}$$

D R = Densidad Relativa y

D_i = Densidad Absoluta para una especie

Luego de obtenida la información según los métodos directo o indirecto, se hizo un análisis estadístico estableciéndose las siguientes comparaciones:

a) Entre el porcentaje en que las especies fueron incluidas en la dieta y los valores estimados con el análisis microscópico de fecas (ambos métodos).

b) Entre el porcentaje en que las especies fueron incluidas en la dieta y las estimaciones por análisis microscópico de muestras de forraje ofrecido.

Entre los dos métodos se determinó si había diferencias significativas.

Como cada una de las especies variables (heno de alfalfa y paja de porotos) se encontraba en seis niveles y de cada nivel se analizaron 12 muestras, se dispuso de 72 estimaciones para calcular ecuaciones de regresión y coeficientes de correlación entre el porcentaje de inclusión y su valor estimado.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se hizo un análisis por separado de los resultados obtenidos a partir del análisis de las fecas y los de las muestras del alimento ofrecido.

a) *Análisis microscópico de las fecas:*

Se calcularon las ecuaciones de regresión y los coeficientes de correlación, de manera de comparar los valores estimados (x) y el de inclusión (Y) de una determinada especie (Cuadro 2).

Cuadro 2
ECUACIONES DE REGRESIÓN Y COEFICIENTES DE CORRELACIÓN CALCULADOS
PARA LAS VARIABLES QUE SE INDICAN

Variables	Ecuación $y = a + bx$	Coefficiente de correlación
% de inclusión vs F R	$Y = 0,6632 + 0,9982 X$	0,98
% de inclusión vs D R	$Y = 1,7619 + 0,9628 X$	0,96
% de inclusión vs F R	$Y = 1,1908 + 1,0569 X$	0,98
% de inclusión vs D R	$Y = 0,4204 + 1,0401 X$	0,96

¹ Y = % de inclusión de heno de alfalfa

² Y = % de inclusión de paja de poroto

Los valores de los coeficientes de correlación calculados para ambos métodos de estimación (0,98 para el método directo y 0,96 el indirecto en ambos forrajes) son muy similares, indicando una alta correlación y buena precisión entre los valores estimados y el de inclusión.

La prueba t demostró que no hubo diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre las ecuaciones de regresión calculadas y la ecuación $Y = X$, es decir aquella que expresa una relación de 1:1 entre los porcentajes de inclusión y los estimados.

Mediante una prueba t - pareada se com-

probó que no existen diferencias significativas entre el método de estimación directo y el indirecto; ambos pueden ser usados con el mismo grado de precisión. Sin embargo, para la identificación de las muestras, es más fácil registrar la presencia o ausencia de una especie (método indirecto) que contar todos los fragmentos de epidermis de todas las especies que aparezcan en cada campo. Por lo tanto, sería más práctico y rápido el método indirecto.

En los cuadros 3 y 4 se presentan los promedios de las estimaciones hechas por cada método para paja de poroto y heno de alfalfa.

Cuadro 3
VALORES PROMEDIOS ESTIMADOS DE INCLUSIÓN DE HENO DE ALFALFA Y
PAJA DE POROTO EN LAS DIETAS. MÉTODO DIRECTO (F R).

Forraje	% de inclusión en la dieta					
	10	20	30	40	50	60
H. Alfalfa (\bar{X} F R)	10,46	17,74	30,89	39,35	50,27	57,69
P. poroto (\bar{X} F R)	11,0	21,10	28,25	39,91	49,13	56,06

Cuadro 4
VALORES PROMEDIOS ESTIMADOS DE INCLUSIÓN DE HENO DE ALFALFA Y
PAJA DE POROTO EN LAS DIETAS. MÉTODO INDIRECTO (D R)

Forrajes	% inclusión en la dieta					
	10	20	30	40	50	60
H. alfalfa (\bar{X} D R)	10,30	18,13	31,23	38,88	52,16	56,33
P. poroto (\bar{X} D R)	11,03	21,33	27,51	40,56	48,47	55,44

Los valores estimados obtenidos por ambos métodos no fueron estadísticamente diferentes ($P \geq 0,01$). En el futuro sería recomendable hacer estudios con niveles de inclusión mayores de los utilizados, para comprobar si la tendencia de una correcta estimación se mantiene.

Los forrajes más toscos dificultan más el análisis de las muestras, ya que hay una gran cantidad de tallos muy lignificados que no sufren mayor alteración ni en el proceso de digestión, ni en la maceración en medio ácido, por lo cual aparecen tallos de muy difícil identificación. Este problema se presentará en animales a pastoreo sólo en la época de madurez del forraje.

Con frecuencia aparecen trozos de epidermis que no son identificables, debido a que no existe en ellos una característica que los identifique claramente de otros que se le parecen.

Este tipo de problemas es señalado por Roserie *et al.* (1975), que encontraron que un 6% de los trozos de epidermis no son identificables.

Existen escasos trabajos de este tipo que permitan comparar los resultados aquí obtenidos, sin embargo, Uresk y Richard (1976) usaron este método para determinar la composición botánica de la dieta de un grupo de novillos, asegurando que los resultados del análisis de fecas están altamente correlacio-

nados con las observaciones efectuadas en terreno y con los forrajes seleccionados con los animales. Igualmente Roserie *et al.* (1975), también en novillos, encontraron que los valores de inclusión de cada especie determinados por análisis microscópico de fecas, coincidieron con los determinados en el análisis de la pradera (forraje disponible).

b) Análisis microscópico del forraje ofrecido

Este análisis se hizo en muestras que no habían sufrido la acción digestiva, por lo cual se disminuyó el número de muestras a tres por dieta, que es el mismo número utilizado por Free *et al.* (1969) para estudio de muestras obtenidas de animales con fistula esofágica. Los valores promedios estimados se muestran en los cuadros 5 y 6.

Con los valores obtenidos, se calcularon las ecuaciones de regresión y los coeficientes de correlación, que expresan la relación entre el porcentaje de inclusión de cada espe-

cie en la mezcla y las estimaciones hechas en el análisis microscópico del forraje ofrecido (Cuadro 7).

Los coeficientes de correlación calculados son similares a los encontrados por Spark y Malecheck (1968), al estudiar la composición porcentual de distintas mezclas de pastos con la técnica del análisis microhistológico.

La prueba t, con que se probó la hipótesis de que $a = 0$ y $b = 1$, demostró que no existen diferencias significativas entre las ecuaciones calculadas y la ecuación teórica $X = Y$, que expresa que existe una relación 1:1 entre los valores estimados y los de inclusión. De esto se desprende que la Frecuencia Relativa y la Densidad Relativa son buenos estimadores de la proporción en que cada forraje se incluyó en las dietas.

Se estima conveniente realizar mayores estudios en especies forrajeras que se incluyen sobre un 50% de la dieta, para obtener mayor precisión de los resultados.

Cuadro 5
PROMEDIOS ESTIMADOS DE INCLUSIÓN DE HENO DE ALFALFA Y PAJA DE POROTO EN LAS DIETAS. MÉTODO DIRECTO (F R)

Forraje	% de inclusión en la dieta					
	10	20	30	40	50	60
H. alfalfa (F R. \bar{X})	11,81	21,65	32,35	43,05	54,24	58,77
P. poroto (F R. \bar{X})	13,10	18,63	28,82	40,85	48,61	56,06

Cuadro 6
PROMEDIOS ESTIMADOS DE INCLUSIÓN DE HENO DE ALFALFA Y PAJA DE POROTO EN LAS DIETAS. MÉTODO INDIRECTO (D R)

Ingredientes	% de inclusión en las dietas					
	10	20	30	40	50	60
H. Alfalfa (D R. \bar{X})	10,62	21,86	34,36	45,0	55,25	61,24
P. Poroto (D R. \bar{X})	14,05	18,88	27,58	40,96	49,55	62,88

Cuadro 7
ECUACIONES DE REGRESIÓN Y COEFICIENTES DE CORRELACIÓN CALCULADOS PARA LAS VARIABLES QUE SE INDICAN

Variables	$Y = a + bx$	coeficiente de correlación
% de inclusión vs F R	$Y = -1,9462 + 1,0270X$	0,98
% de inclusión vs D R	$Y = 0,7018 + 0,9318X$	0,98*
% de inclusión vs F R	$Y = -1,9905 + 1,0551X$	0,99
% de inclusión vs D R	$Y = -0,4960 + 0,9988X$	0,98**

* $Y =$ % de inclusión de heno de alfalfa en la mezcla

** $Y =$ % de inclusión de paja de poroto en la mezcla

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que:

■ El método de análisis Microhistológico de fecas propuesto por Spark y Malecheck (1968) y Hansen y Reid (1975), modificado para el presente trabajo, es adecuado para la determinación del hábito de consumo en ovinos.

■ La Frecuencia Relativa (Método Directo) y Densidad Relativa (Método Indirecto), son buenos estimadores del porcentaje en que las especies son consumidas por un rumiante.

■ Existe una alta correlación entre los valores de inclusión y los estimados por ambos métodos, tanto en muestras de fecas como en las mezclas de forrajes no sometidas a un proceso de digestión.

LITERATURA CITADA

1. BAUMGARTHER, L. y MARTIN, A.C. 1939. Plant histology as an aid in squirrel food habits studies. *J. Range Manag.* 3(3):266-268.
2. COLOMES G., A. 1978. Biología y Ecología del Huemul chileno (*Hippocamelus bisulcus*). Estudio de sus hábitos alimentarios. Tesis Ing. Agr. Santiago. Facultad de Agronomía, Universidad de Chile. 143 p.
3. FREE, J.C., HANSEN, R.M. y SIMS, P. L. 1969. Estimating day weight of food plants in fecas herbivores. *J. Range Manag.* 23(4):300-302.
4. HANSEN, R.M. y DEARSEN, B.L. 1975. Winter foods habits of mule deer in Piceance Basin Colorado. *J. Range Manag.* 24(4):298-300.
5. _____ y REID, L.D. 1975. Diet overlap of deer, elk and cattle in Southern Colorado. *J. Range Manag.* 28(1):43-47.
6. HERCUS, B.H. 1960. Plant cuticle as an aid to determining the diet of grazing animals. *Prac. 8th Intern. Grassland Range.* 443-447.
7. LESPERANCE, A.L., JENSEN, E.H., BOHMAN, V.R. y MADSEN, R.A. 1963. Measuring selective grazing with fistulated steers. *J. Dairy Sc* 43(11):1615-1622.
8. NELSON, A.B. 1962. Methods of sampling and measuring intake of grazing forages. Annual Progress Report, Southern regional Research Project.
9. ROSERIE, R.E., WALLACE y BEEK, R.F. 1975. Cattle diets on semidesert grassland. Botanical composition. *J. Range Manag.* 28(2):89-93.
10. SPARK, D.R. y MALECHECK, J.C. 1958. Estimating day weight in diets using a microscope technique. *J. Range Manag.* 21(4):264-265.
11. STORR, G.M. 1961. Microscopic analysis of feces a technique for ascertaining the diet of herbivorous mammals. *Austr. J. of Biology Sci.* 14(1):157-164.
12. URESK, D.W. y RICHARD, W.H. 1976. Diets of steers on a shrubsteppe rangeland in South-Central Washington. *J. Range Manag.* 29(6):464-466.
13. VAN DYNE, G.M. y TORELL, D.T. 1964. Development and use of the esophageal fistula. *J. Range Manag.* 17(1):7-17.
14. WARD, A.L. 1970. Stomach content and fecal analysis a method of forage identification. *Rocky Mt. For. Exp. Stn. Misc. Publ.* 1147:146-158.
15. WILLIAMS, O.B. 1969. An improved technique for identification of plants fragments in herbivores feces. *J. Range Manag.* 22(3):51-52.