



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

**Proyecto de Investigación previo a la
obtención del título de Ingeniera
Zootecnista.**

Título del Proyecto de Investigación:

**“DEGRADABILIDAD RUMINAL *IN-SITU* DEL PASTO KING GRASS
(*Pennisetum purpureum*) FERTILIZADO CON CUATRO NIVELES DE
NITRÓGENO COSECHADO A LOS SESENTA DÍAS”.**

Autor:

Denisse Lizbeth Arana Sánchez

Director de Proyecto:

Ing. Zoot. Juan H. Avellaneda Cevallos; M. Sc., Dr. C.

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **ARANA SANCHEZ DENISSE LIZBETH**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluye en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Denisse Lizbeth Arana Sánchez

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, Ing. Zoot. Juan H. Avellaneda Cevallos; M. Sc., Dr. C., Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la egresada **DENISSE LIZBETH ARANA SANCHEZ**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado, **“DEGRADABILIDAD RUMINAL *IN-SITU* DEL PASTO KING GRASS (*Pennisetum purpureum*) FERTILIZADO CON CUATRO NIVELES DE NITRÓGENO COSECHADO A LOS SESENTA DÍAS”**., previo a la obtención del título de Ingeniera Zootecnista, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Ing. Zoot. Juan H. Avellaneda Cevallos; M. Sc., Dr. C.
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICACIÓN DE PLAGIO

CERTIFICACIÓN

Certifico que el Proyecto de Investigación de grado titulado: **“DEGRADABILIDAD RUMINAL *IN-SITU* DEL PASTO KING GRASS (*Pennisetum purpureum*) FERTILIZADO CON CUATRO NIVELES DE NITRÓGENO COSECHADO A LOS SESENTA DÍAS”**, de autoría de la estudiante **ARANA SANCHEZ DENISSE LIZBETH**.

De la carrera de Ingeniería Zootécnica de la FCP, fue analizada mediante la herramienta Urkund con resultados satisfactorios.

Ing. Zoot. Juan H. Avellaneda Cevallos; M. Sc., Dr. C.
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTECNICA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“Degradabilidad ruminal *in-situ* del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días”

**Presentado al Consejo Académico como requisito previo a la obtención del título de
Ingeniera Zootecnista**

Aprobado por:

Ing. Samir Zambrano. M.Sc
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Edgar Pinargote. M.Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Bolívar Montenegro. M.Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

No siempre podemos hacer grandes cosas, pero sí podemos hacer cosas pequeñas con gran amor, es por eso que agradezco infinitamente a aquellas personas que de una manera u otra me apoyaron para que pudiera realizar y terminar con éxito este proyecto.

En principio, agradezco a Dios, por saberme guiar y acompañar a lo largo de mi corta vida, por ayudarme a salir a delante a pesar de las circunstancias difíciles que he pasado, por darme fuerzas y no dejarme rendir a pesar de todo lo malo que me ha tocado vivir, por todo el aprendizaje, las experiencias y por qué a pesar de todo soy feliz.

A mi madre porque me dio la vida y me ha entregarme todo su amor, porque ha sabido moldear mi corazón, por sus consejos que cada día me ayudan a ser mejor. Porque hoy lucho y su nombre me da valor. Y a mis hermanos por ser mi pilar fundamental, por su apoyo incondicional y por su amor hacia mí.

A mi Director del Proyecto Dr. Juan Avellaneda mi gratitud y cariño por su infinita paciencia y profesionalismo, por su apoyo y entrega en mi aprendizaje, por compartir su sabiduría y por impulsarme a ser cada día mejor.

A mis amigas Gabriela, Angy, Josselin, y demás compañeros que formaron parte de mi vida y con quienes compartí buenos momentos a lo largo de este trayecto.

Y a ti padre, a ti también te agradezco infinitamente por haberme apoyado mis primeros años en la universidad y porque gracias a ti hoy soy más fuerte. Te amo.

Denisse Arana

DEDICATORIA

Dedico este proyecto con mucho amor a mi madre Lorena Sánchez que siempre ha sido mi fuente de inspiración y mi mayor apoyo, gracias a ella y a sus consejos no me he permitido rendirme.

A mis abuelos Rosa Carreño y Alberto Sánchez que con su amor y ternura me han sabido inspirar para no vencer y avanzar con ganas para nunca mirar hacia atrás, a ellos que desde pequeña he sido su amor y su mayor orgullo y sé que por eso jamás los decepcionare.

A mis hermanos Dennis, Carlos y Némesis Arana porque soy su mayor ejemplo a seguir y porque su felicidad es mi felicidad.

Denisse Arana

RESUMEN Y PALABRAS CLAVES

El trabajo de campo del presente proyecto de investigación de titulación se desarrolló en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) y en el laboratorio de Rumiología y Metabolismo Nutricional de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Se evaluó el efecto de la fertilización nitrogenada con urea (0, 25, 50 y 75 kg de N ha⁻¹) sobre la composición química (CQ) y la degradabilidad ruminal *in situ* (DIS) de la materia seca (DISMS), orgánica (DISMO) y biodisponibilidad de la materia inorgánica (BISMI-cenizas) del pasto King Grass cosechado a los 60 días de rebrote. Para el análisis estadístico de la CQ se empleó un diseño de bloques completos al azar y para la DIS uno de bloques completos al azar generalizado, donde los criterios de bloqueo fueron la fertilidad del suelo y el animal donde se realizó la incubación ruminal, respectivamente. Se pudo observar que hubo un mayor contenido de MS cuando el pasto fue fertilizado con 75 kg de N ha⁻¹ (P<0.05), sin embargo, no se evidenció (P>0.05) efecto de la fertilización sobre las demás variables de CQ. Aunque hubo diferencias (P<0.05) entre los tratamientos estudiados, no se observó una relación directa del efecto del nivel de nitrógeno aplicado al suelo sobre DISMS, DISMO y BISMI en los diferentes tiempos de incubación, ya que varios tratamientos tuvieron comportamientos similares. Los parámetros de degradabilidad ruminal (a, b, c, Kd y DE) para la MS, MO y MI, tampoco reportaron respuestas concluyentes directas del efecto de la fertilización nitrogenada, toda vez, que en algunas variables existieron similitud con el testigo, mientras que en otra se encontró discrepancias, por cuanto se concluyó, que para las condiciones en las cuales se desarrolló el estudio, no existe necesidad de la fertilización con urea del pasto King Grass.

Palabras claves: Degradabilidad, Rumen, Rumiología, Fertilización, Nitrógeno, Composición química.

ABSTRACT AND KEYWORDS.

The field work of the present titration research project was carried out at the Pichilingue Tropical Experimental Station of the National Institute of Agricultural Research (INIAP) and at the Rumiology and Nutritional Metabolism laboratory of the State Technical University of Quevedo. The effect of nitrogen fertilization with urea (0, 25, 50 and 75 kg of N ha⁻¹) on chemical composition (CQ) and in situ ruminal degradability (DIS) of dry matter (DISMS), organic was evaluated (DISMO) and bioavailability of the inorganic matter (BISMI-ash) of the King Grass grass harvested at 60 days of regrowth. For the statistical analysis of the CQ, a randomized complete blocks design was used and for the DIS one of the blocks was complete randomized generalized, where the blocking criteria were the fertility of the soil and the animal where the ruminal incubation was performed, respectively. It was observed that there was a higher MS content when the grass was fertilized with 75 kg of N ha⁻¹ (P <0.05), however, it was not evident (P > 0.05) effect of the fertilization on the other variables of CQ. Although there were differences (P <0.05) between the studied treatments, no direct relation was observed of the effect of the nitrogen level applied to the soil on DISMS, DISMO and BISMI in the different incubation times, since several treatments had similar behaviors. The parameters of ruminal degradability (a, b, c, Kd and DE) for the MS, MO and MI, also did not report direct conclusive responses of the effect of nitrogen fertilization, since in some variables there was similarity with the control, while that in another it was found discrepancies, since it was concluded, that for the conditions in which the study was developed, there is no need for urea fertilization of King Grass grass.

Key words: Degradability, Rumen, Rumiology, Fertilization, Nitrogen, Chemical composition.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
1.1.1. Formulación del problema.....	5
1.1.2. Sistematización del problema.....	5
1.2. OBJETIVOS.....	6
1.2.1. Objetivo general.....	6
1.2.2. Objetivos específicos.....	6
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	7
CAPÍTULO II.....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	8
2.1. MARCO CONCEPTUAL.....	9
2.1.1. Anti-calidad.....	9
2.1.2. Área de pastoreo.....	9
2.1.3. Área de cultivo.....	9
2.1.4. Arbusto.....	9
2.1.5. Árbol.....	10
2.1.6. Asignación forrajera.....	10
2.1.7. Biomasa.....	10
2.1.8. Calidad.....	10
2.1.9. Calidad relativa del forraje.....	10
2.1.10. Capacidad de carga.....	11
2.1.11. Campo.....	11
2.1.12. Ceniza.....	11
2.1.13. Conservación.....	11
2.1.14. Consumo voluntario.....	11
2.1.15. Comportamiento de ingestión.....	11
2.1.16. Composición química.....	12
2.1.17. Cultivo.....	12
2.1.18. Degradabilidad.....	12
2.1.19. Digestibilidad in-situ.....	12
2.1.20. Energía.....	12
2.1.21. Energía bruta.....	13
2.1.22. Energía digestible.....	13
2.1.23. Energía metabolizable.....	13

2.1.24.	Energía neta.....	13
2.1.25.	Ensilaje.....	13
2.1.26.	Fertilizante vegetal.....	14
2.1.27.	Forraje.....	14
2.1.28.	Gestión del pastoreo.....	14
2.1.29.	Herbáceo.....	14
2.1.30.	Índice de presión de pastoreo.....	14
2.1.31.	Índice de área foliar.....	15
2.1.32.	Ingesta de forraje.....	15
2.1.33.	Ingesta de materia seca.....	15
2.1.34.	Ingesta de materia orgánica.....	15
2.1.35.	Leguminosas.....	15
2.1.36.	Materia seca.....	15
2.1.37.	Materia mineral o inorgánica.....	16
2.1.38.	Masa de forraje.....	16
2.1.39.	Manejo extensivo del pastoreo.....	16
2.1.40.	Manejo intensivo de pastoreo.....	16
2.1.41.	Pastizales / praderas anuales.....	16
2.1.42.	Pastizales permanentes.....	17
2.1.43.	Pastizales temporales.....	17
2.1.44.	Pastizales naturalizados.....	17
2.1.45.	Pastizales nativos.....	17
2.1.46.	Pastos.....	17
2.1.47.	Pastoreo.....	18
2.1.48.	Peso de mordida.....	18
2.1.49.	Proteína bruta.....	18
2.1.50.	Preferencia.....	18
2.1.51.	Selección de forraje.....	18
2.1.52.	Tasa de almacenamiento.....	19
2.1.53.	Tasa de mordida.....	19
2.1.54.	Tierras de pastoreo.....	19
2.1.55.	Tiempo de pastoreo.....	19
2.1.56.	Total, de nutrientes digeribles.....	19
2.1.57.	Unidad animal.....	20
2.1.58.	Unidad de toma de forraje.....	20
2.1.59.	Unidad animal diaria.....	20
2.1.60.	Unidad de manejo de pastoreo.....	20
2.1.61.	Valor nutritivo.....	20
2.1.62.	Valor de alimentación relativa.....	21
2.2	MARCO REFERENCIAL.....	21

2.2.1.	Generalidades del pasto King Grass (<i>Pennisetum purpureum</i> cv. King Grass).....	21
2.2.2.	Degradabilidad.	22
2.2.3.	Técnicas para valorar la degradabilidad y digestibilidad de alimentos. ...	23
2.2.4.	Técnica in situ.	24
2.2.5.	Métodos de digestibilidad in situ de forrajes	25
2.2.6.	Métodos de digestibilidad in vivo de forrajes	28
2.2.7.	Métodos de digestibilidad in vitro de forrajes.....	30
2.2.8.	Cultivos de microorganismos ruminales de corta duración	31
2.2.9.	Cultivos de microorganismos ruminales de larga duración (cmrld) Rusitec.....	34
2.2.10.	Alcances de los métodos de digestibilidad in vitro de producción de gases.....	36
2.2.11.	Limitaciones de los métodos de digestibilidad in vitro de producción de gases.....	38
2.2.12.	Composición de la pared celular de los forrajes.....	39
CAPÍTULO III		41
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....		41
3.1.	LOCALIZACIÓN.....	42
3.1.1.	Coordenada del cantón Quevedo.....	42
3.1.2.	Mapeo del sitio donde se realizará la investigación.	42
3.2.	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	43
3.3.	MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.....	43
3.4.	FUENTES DE RECOPIACIÓN DE INFORMACIÓN.	43
3.5.	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.	43
3.6.	INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN.....	45
3.7.	VARIABLES A EVALUAR.	45
3.7.1.	Materia Seca.....	45
3.7.2.	Materia Orgánica.	45
3.7.3.	Materia Inorgánica.....	46
3.7.4.	Proteína.	47
3.7.5.	Fibra Detergente Neutra (FDN)	48
3.7.6.	Fibra Detergente Ácida (FDA).....	48
3.7.7.	Degradación Ruminal.	49
3.8.	MANEJO DEL EXPERIMENTO.	50
3.8.1.	Preparación del pasto.....	50
3.8.2.	Pruebas de degradabilidad in situ.	50
3.9.	TRATAMIENTO DE LOS DATOS	50
3.10.	RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES.....	51

3.10.1. Recursos Humanos.....	51
3.10.2. Materiales.....	51
CAPÍTULO IV.....	52
RESULTADOS Y DISCUSION.....	52
4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
CAPÍTULO V.....	62
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	62
5.1. CONCLUSIONES.....	63
5.2. RECOMENDACIONES.....	64
CAPÍTULO VI.....	65
BIBLIOGRAFIA.....	65
CAPITULO VII.....	79
ANEXOS.....	79

INDICE DE TABLAS

Tabla		Pag.
Tabla 1	Coordenadas del cantón Quevedo.	42
Tabla 2	Efecto del nivel de nitrógeno (kg ha ⁻¹) sobre la composición química del pasto King grass cosechado a los 60 días	57
Tabla 3	Efecto del nivel de nitrógeno (kg ha ⁻¹) sobre degradabilidad ruminal <i>in situ</i> (%) de la materia seca (MS)	58
Tabla 4	Efecto del nivel de nitrógeno (kg ha ⁻¹) sobre degradabilidad ruminal <i>in situ</i> (%) de la materia orgánica (MO)	60
Tabla 5	Efecto del nivel de nitrógeno (kg ha ⁻¹) sobre degradabilidad ruminal <i>in situ</i> (%) de la materia inorgánica (MI)	61

INDICE DE FORMULAS

Formula		Pag.
Fórmula 1	Diseño de Bloques Completos al Azar	44
Fórmula 2	Diseño de Bloques Completos Generalizados	44
Fórmula 3	Porcentaje de materia seca	45
Fórmula 4	Porcentaje de materia orgánica	46
Fórmula 5	Porcentaje de materia Inorgánica	46
Fórmula 6	Porcentaje de nitrógeno	47
Fórmula 7	Proteína bruta	47
Fórmula 8	Fibra detergente neutra	48
Fórmula 9	Fibra detergente ácida	49
Fórmula 10	Porcentaje de degradabilidad ruminal	49

INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de los productores dedicados a la ganadería, es el mejorar los índices productivos de carne y leche; como mecanismo de provisión de alimentos y servicios para una población cada vez más creciente. Una ganadería moderna, necesariamente tiene que ser sinónimo de rentabilidad y competitividad, entre los factores que inciden en la empresa ganadera se tiene al componente de la alimentación y nutrición animal como son los forrajes, concentrados y aditivos alimentarios, que son la fuente principal para una buena crianza del animal (1).

La alimentación es uno de los rubros de mayor incidencia en el costo de producción en las explotaciones pecuarias. La suplementación tiene a su vez una importancia fundamental en dicho rubro, donde el precio del alimento y el del producto (leche o carne) definirán el nivel y el período de utilización del suplemento (2). La ganadería es una de las actividades económicas más importantes de los países de América Latina; no obstante, los indicadores de producción han permanecido invariables en las últimas décadas, teniendo repercusiones negativas sobre la economía de los productores; las principales desventajas de los sistemas actuales son: la reducida oferta cuantitativa y cualitativa de los forrajes, el establecimiento del monocultivo de gramíneas, sequías periódicas y pérdida de las características físico-químicas y biológicas del suelo (3)

Las especies del género *Pennisetum* constituyen una de las principales en la producción de biomasa (4). Su principal uso es el de corte y eventualmente como ensilaje, en nuestro medio está ampliamente distribuido el cultivar King Grass de este género (5). Ecuador tiene 5 millones de hectáreas disponibles para la producción de pastos y forrajes y actualmente un inventario bovino aproximado de sólo 4.5 millones de cabezas (6). En la provincia de Los Ríos hay un total de 70.077 ha de pasto cultivado y 31.638 ha de pastos naturales, donde existen alrededor de 117.803 animales de los cuales el 42% es criollo, el 56% mestizo, habiendo un mínimo porcentaje de pura sangre de leche y carne (7).

El conocimiento de la composición química (8, 9, 10) y la degradabilidad ruminal (11, 12) de los forrajes es de vital importancia para trazar adecuadas estrategias de alimentación (13, 14), sobre todo porque el pasto *Pennisetum purpureum* es uno de los forrajes más utilizados en el trópico y subtropico para la alimentación de rumiantes (15, 16); siendo importante por ello, valorar su calidad nutricional, y la determinación del contenido de ciertas fracciones, entre las que se encuentran las de fibra (FDN y FDA), que influye negativamente sobre la degradabilidad de los forrajes (17, 18).

Por otra parte, otro de los aspectos fundamentales que hay que tomar en cuenta en los sistemas de explotación ganadera, tiene que ver con la búsqueda de incrementar la productividad de los pastizales, así como el mejoramiento de la calidad de estos; mediante procedimientos que permitan mejorar el uso del agua (8), el suelo (9) y por lo tanto la productividad forrajera a través de la aplicación de programas de fertilización (10) que tengan como fin que las plantas tengan las condiciones adecuadas que les permita expresar su potencial genético (11), lo que provoca que los rumiantes tengan una fuente alimenticia que posibilite que el ambiente ruminal brinde las condiciones para la adecuada síntesis microbiana (23, 24). Una de las alternativas actualmente investigadas, asociadas a la fertilización (12), es el uso de fuentes nitrogenadas, como la urea que busca lograr que el área de pastoreo incremente su producción de forraje (26, 27), la planta mejore su nivel productivo, composición, digestibilidad (13) y por lo tanto la productividad animal (14).

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de la investigación.

Planteamiento del Problema.

En muchos países en vías de desarrollo el fomento de la producción animal se encuentra severamente limitada por recursos forrajeros inadecuados tanto en su disponibilidad a lo largo del año como de su manejo productivo. La escasez de alimentos, tanto en cantidad como en calidad, restringe el nivel de productividad de los animales (15)

Los pastos constituyen la principal fuente de nutrimentos para la alimentación del ganado bovino en las regiones tropicales. Sin lugar a dudas, el principal atributo de los pastos tropicales es su gran capacidad para producir materia seca, lo que los hace ideales para suministrar proteína, energía, minerales, vitaminas y fibra al ganado bovino especializado en la producción de leche, así como al de doble propósito y de carne (16).

La actividad ganadera en ocasiones presenta problemas en la producción, siendo esto debido en muchos casos por el mal manejo en el pastoreo, corte a edad inapropiada del pasto, baja fertilidad de los suelos, falta de fertilización de las áreas de pastoreo, por lo que las respuestas de los pastos y por ende de los animales se ve afectada negativamente ya que la calidad de los forrajes no cumple con las necesidades y requerimientos.

Diagnóstico

El permanente crecimiento mundial, hace que día a día los investigadores examinen nuevas maneras de optimizar las diferentes producciones, a nivel de campo los ganaderos buscan llenar la demanda de derivados de bovinos, que se consume a diario. Por ello se enfocan en la mejora de los pastizales ya que es el alimento principal en las dietas bovinas.

Pronóstico

Los pastos de corte son excelentes productores de biomasa, entre ellos está el King Grass (*Pennisetum purpureum*), el mismo que tiene un aporte significativo de nutrientes. Por estas razones es que se realizan estudios para ampliar los conocimientos y hacer un efectivo manejo de pasturas.

1.1.1. Formulación del problema.

¿Cuál es la composición química y degradabilidad ruminal *in-situ* del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días?

1.1.2. Sistematización del problema.

- ¿Cuál es la composición química del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días?
- ¿Cuál es la degradabilidad ruminal *in-situ* de la materia seca del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días?
- ¿Cuál es la degradabilidad ruminal *in-situ* de la materia orgánica del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días?
- ¿Cuál es la degradabilidad ruminal *in-situ* de la materia inorgánica del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días?

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo general

- Evaluar la composición química y degradabilidad ruminal *in-situ* de la materia seca, orgánica e inorgánica del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días.

1.2.2. Objetivos específicos.

- Evaluar los cambios en la composición química del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días.
- Determinar el efecto de los niveles de nitrógeno del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) cosechado a los sesenta días en la degradabilidad ruminal *in-situ* de la materia seca.
- Determinar el efecto de los niveles de nitrógeno del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) cosechado a los sesenta días en la degradabilidad ruminal *in-situ* de la materia orgánica.
- Determinar el efecto de los niveles de nitrógeno del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) cosechado a los sesenta días en la degradabilidad ruminal *in-situ* de la materia inorgánica.

1.3. Justificación.

La necesidad de aumentar la producción de la tierra disponible para actividades agropecuarias, obliga a los productores a recurrir a alternativas que aporten volumen pero que a su vez impriman calidad para la producción, por lo cual deben implementar pasturas manejadas bajo un régimen de corte y acarreo, con el fin de suplir las necesidades diarias de los hatos. Una de las variedades de pasto más utilizada es el *Pennisetum purpureum* cv. King Grass, que se caracteriza por tener una buena producción de biomasa de calidad nutricional aceptable (17).

Por lo anterior el presente trabajo de investigación busca hacer uso de los fertilizantes como mecanismo que permita mejorar la calidad nutricional del pasto *Pennisetum purpureum* e identificar los cambios que se suscitan en la composición química y degradabilidad ruminal *in-situ* del a materia seca, orgánica y mineral del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum*) fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los sesenta días.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual.

2.1.1. Anti-calidad.

Una descripción de cualquier factor químico en el forraje (como la lignina, un alcaloide, una fitohormona o una toxina) que puede afectar negativamente al animal, incluida su fisiología, salud y bienestar, reproducción e ingesta, o el grado de que el forraje cumple con los requisitos nutricionales de un tipo específico y clase de animal (18).

2.1.2. Área de pastoreo.

Cualquier extensión de tierra con vegetación que sea pastoreada o tiene el potencial de ser pastoreada por animales (doméstico y salvaje). Este término incluye y cubre todo tipo de área que puede pastar (19).

2.1.3. Área de cultivo.

Tierra dedicada a la producción de cultivos sembrados. Puede ser utilizado para producir cultivos forrajeros (19).

2.1.4. Arbusto.

Es una planta leñosa de múltiples tallos que se ramifica a poca altura sobre el suelo sus ramas surgen junto a la base. Su altura generalmente es de <5-6 m (19).

2.1.5. Árbol.

Es una planta leñosa con un tallo primario que crece a cierta distancia del suelo. Su altura generalmente es superior a 5 m (19).

2.1.6. Asignación forrajera.

Es la relación entre la masa de forraje y el peso vivo de los animales por unidad de área específica de la tierra de pastura en un momento dado; es una medición instantánea de la relación del forraje de los animales (19).

2.1.7. Biomasa.

Es el peso seco total de la vegetación por unidad de tierra generalmente por encima del nivel del suelo, en un instante específico (18).

2.1.8. Calidad.

Es una descripción del grado de que el pasto cumple con los requisitos nutricionales en un tipo específico (18).

2.1.9. Calidad relativa del forraje.

Es un índice que clasifica todos los forrajes en base a la ingesta total de nutrientes digeribles calculados por ecuaciones sumatorias después de estimar fracciones digeribles de proteína, grasa ácidos, fibra y carbohidratos (19).

2.1.10. Capacidad de carga.

La máxima tasa que alcanza un nivel objetivo de rendimiento animal, en un sistema específico de pastoreo que se puede aplicar durante un tiempo definido sin deterioro del pastoreo (18).

2.1.11. Campo.

Un área de tierra definida que es utilizada para cultivos de forrajes (19).

2.1.12. Ceniza.

El componente mineral no orgánico que queda como residuo del material vegetal (20).

2.1.13. Conservación.

Es el proceso mediante el cual el forraje se guarda para ser consumido por los animales en un futuro. El forraje se puede conservar in situ o puede ser cosechado, resguardado y almacenado (por ejemplo, heno, ensilaje, ensilado) (19)

2.1.14. Consumo voluntario.

La cantidad de alimento consumido por el animal sin limitaciones por la cantidad disponible (21).

2.1.15. Comportamiento de ingestión.

El comportamiento del animal involucrado en el pastoreo, incluido el tiempo que se dedica a la búsqueda, selección y consumo de forraje, generalmente a diario (18).

2.1.16. Composición química.

Se refiere a la cantidad de nutrientes orgánicos y minerales presentes, así como la existencia de factores o constituyentes que influyen sobre la calidad de los pastos y forrajes (22).

2.1.17. Cultivo.

Es el producto que se obtiene del sembrado de la tierra (19).

2.1.18. Degradabilidad.

La degradabilidad hace referencia a la cantidad de alimento que se descompone en sus elementos integrantes, mediante procesos biológicos o químicos (23).

2.1.19. Digestibilidad in-situ.

Es un proceso de fermentación del material a estudiar, donde se introduce la muestra en una bolsa de poliéster o de nylon con pequeños poros (24).

2.1.20. Energía.

Es la capacidad para realizar un trabajo. Generalmente expresado en mega calorías Mcal/ kg materia seca de forraje donde se encuentra una caloría estandarizado para ser igual a 4.184 julios (20).

2.1.21. Energía bruta.

Se obtiene al quemar un alimento en una bomba calorimétrica y se mide en kilocalorías kcal (20).

2.1.22. Energía digestible.

Es la energía que es aparentemente absorbida por el tracto digestivo (energía en la comida menos la energía perdida en las heces) (20).

2.1.23. Energía metabolizable.

Es la energía aprovechable para el metabolismo de un animal (energía en la comida menos energía fecal, energía urinaria y gases perdidos de energía) (20).

2.1.24. Energía neta.

Se define como energía metabolizable menos el incremento de calor del metabolismo de nutrientes y fermentación. El aumento neto en animales útiles producto expresado por unidad de aumento en la ingesta de alimentos (20).

2.1.25. Ensilaje.

Es forraje cosechado y guardado con altos contenidos de humedad (generalmente > 500 g kg) y que contiene por ácidos orgánicos que son producidos durante un proceso de fermentación anaeróbica (19).

2.1.26. Fertilizante vegetal.

Sustancia o mezcla química natural o sintética utilizada para enriquecer el suelo y favorecer el crecimiento vegetal (17).

2.1.27. Forraje.

Plantas que son cultivadas con el fin de proporcionar alimento para el pastoreo de animales o que pueden cosecharse para alimentarse (20).

2.1.28. Gestión del pastoreo.

Es la manejo del pasto en busca de un objetivo o conjunto de objetivos específicos (19).

2.1.29. Herbáceo.

Herbáceo se refiere a plantas no leñosas, entre las que se encuentran el césped, hierba y plantas forrajeras. Las variedades herbáceas se diferencian de especies duras al no tener tallos leñosos perennes (19).

2.1.30. Índice de presión de pastoreo.

Relación medida en términos de forraje integrado de consumo por el animal (kg d) 1) sobre forraje inicial más tasa de crecimiento de forraje integrado (kg d) sobre tiempo (18).

2.1.31. Índice de área foliar.

Se define como la cantidad de área foliar por el área de la superficie de la tierra. Se refiere a la lámina de la hoja más la mitad del área de la superficie expuesta de vainas y pecíolos (19).

2.1.32. Ingesta de forraje.

El forraje que es consumido por los animales (19).

2.1.33. Ingesta de materia seca.

La cantidad de forraje que es consumido por el animal sobre una base de materia seca (18).

2.1.34. Ingesta de materia orgánica.

La cantidad de forraje consumido por el animal sobre una base de materia orgánica (18).

2.1.35. Leguminosas.

Variedades de plantas o plantas de la familia Fabaceae con una amplia gama de caracteres físicos de herbáceas arbustivas y de formas arbóreas (19).

2.1.36. Materia seca.

La materia seca o extracto seco es la parte que resta de un material tras extraer toda el agua posible a través de un calentamiento hecho en condiciones de laboratorio (22).

2.1.37. Materia mineral o inorgánica.

Son elementos químicos inorgánicos presentes en los alimentos, necesarios para el buen funcionamiento en el proceso metabólico del animal, el contenido mineral en los pastos y forrajes es muy variable ya que depende de las variedades del pasto (22).

2.1.38. Masa de forraje.

Es el peso seco total de forraje por unidad de área de tierra por encima de un nivel de referencia definido, generalmente nivel del suelo, en un momento específico (19).

2.1.39. Manejo extensivo del pastoreo.

Gestión que utiliza áreas de terrenos relativamente grandes por animal y un nivel de mano de obra recursos o capital, relativamente bajo (19).

2.1.40. Manejo intensivo de pastoreo.

Gestión que utiliza niveles de mano de obra, recursos o capital relativamente altos, para aumentar la producción por unidad de área o por animal, a través de un aumento relativo en la presión de pastoreo y el uso de forraje (19).

2.1.41. Pastizales / praderas anuales.

Forraje que se establece anualmente, generalmente con plantas anuales, e involucra alteraciones del suelo, remoción de vegetación y otras prácticas de cultivo (19).

2.1.42. Pastizales permanentes.

Área en la que la vegetación se dispone de plantas perennes o especies forrajeras anuales de siembra directa que pueden persistir indefinidamente (19).

2.1.43. Pastizales temporales.

Área en la que la vegetación se dispone de plantas anuales, variedades de forraje bienales o perennes mantenidas por un breve período de tiempo (generalmente solo unos pocos años) (19)..

2.1.44. Pastizales naturalizados.

Las variedades de forraje presentes se introducen principalmente de otras regiones geográficas que se han señalado y persistido bajo las condiciones existentes del medio ambiente y el servicio durante un largo tiempo (19).

2.1.45. Pastizales nativos.

Entorno dominado por nativos o de origen natural, pastos y otras especies herbáceas utilizadas principalmente para pastoreo por ganado y vida silvestre (19).

2.1.46. Pastos.

Especies de plantas o plantas de las familias de los Poaceae (18).

2.1.47. Pastoreo.

Es una actividad de colecta de forraje o pasto que incluye morder y masticar, pero no rumiar sin parar (19).

2.1.48. Peso de mordida.

El peso total de forraje que es tomado por el animal en una mordida (la materia seca de la base) (18).

2.1.49. Proteína bruta.

El nitrógeno en el forraje se calcula como el nitrógeno total multiplicado por 6.25 (20).

2.1.50. Preferencia.

Una medida alternativa de la ingesta relativa de forrajes o constituyentes forrajeros, donde el acceso a pastorear no tiene restricciones (18).

2.1.51. Selección de forraje.

La eliminación de forrajes por parte de los animales en lugar de otros forrajes o partes de plantas (19).

2.1.52. Tasa de almacenamiento.

Es la correlación entre el número de animales y el área específico de la tierra en uno o más unidades utilizadas durante un tiempo específico (18).

2.1.53. Tasa de mordida.

La cantidad de bocados tomados durante un tiempo específico; generalmente como mínimos mordiscos (18).

2.1.54. Tierras de pastoreo.

Tierra (y la vegetación creciendo en él) brindado a la producción de forraje indígena para la cosecha por pastoreo, corte o ambos (19)..

2.1.55. Tiempo de pastoreo.

La cantidad total del tiempo que es dedicado específicamente al pastoreo generalmente durante 24 h (19).

2.1.56. Total, de nutrientes digeribles.

Es una medida general del valor nutritivo de un alimento calculado a partir de la ingesta de nutrientes digeribles, con arreglo por el valor energético de la grasa (19).

2.1.57. Unidad animal.

Constituye una vaca adulta con un peso de 500 kg en gestación y es alimentada para satisfacer sus necesidades y cumplir con su función (18).

2.1.58. Unidad de toma de forraje.

Es un mecanismo para medir la tasa de consumo de forraje por los animales de pastoreo donde una unidad de toma de forraje es semejante al consumo de 8.8 kg de materia seca (19).

2.1.59. Unidad animal diaria.

Es La cantidad de forraje seco que es consumido por el animal por un período de 24 horas (8.8 kg) (18).

2.1.60. Unidad de manejo de pastoreo.

Es la totalidad del área de pastoreo utilizada para alimentar a los animales con pasto sobre un tiempo definido, generalmente un año (19).

2.1.61. Valor nutritivo.

Es una respuesta basada en la composición química, la digestibilidad y la naturaleza de los productos digeridos por el animal (18).

2.1.62. Valor de alimentación relativa.

Un índice para clasificar los forrajes de gramíneas y legumbres en base a la ingesta de energía digestible calculada a partir de fibra detergente acida (FDA) y fibra detergente neutro (FDN) (25).

2.2. Marco referencial.

2.2.1. Generalidades del pasto King Grass (*Pennisetum purpureum* cv. King Grass).

Las especies del género *Pennisetum* constituyen una de las principales en la producción de biomasa (4). Prospera de 0 a 2100 msnm, puede producir 40 a 60TM/ha/corte de forraje verde cada 45-60 días. Su principal uso es el de corte y eventualmente como ensilaje (5). Para la siembra generalmente se utilizan estolones (4), determinaron que plantados a 45 grados de inclinación se logra una mayor velocidad de germinación y crecimiento para la plantada.

En cuanto a calidad del pasto de acuerdo a la edad de corte, indican que la mejor calidad del forraje se presenta cuando el material se cosecha a 60 días. A los 90 días de edad la calidad del King Grass se ve más afectada. La época de cosecha y la proporción de hojas en el material cosechado afectan también la composición del pasto King Grass (26).

La composición nutricional varía respecto a la edad de la cosecha, teniendo de 13,03 a 14,43% de MS; de 9,56 a 8,42% de PC; 14,47 a 13,63 de Cenizas; 73,78 a 76,91% de FDN y 46,53 a 51,83 de FDA en edades de 60 a 90 días respectivamente (27).

2.2.2. Degradabilidad.

La estimación de la degradabilidad *in situ* a través de las diferentes metodologías propuestas a nivel mundial, tiene como objetivo evaluar algunas características como la tasa y magnitud de la ingestión de alimentos, las cuales están relacionadas con la calidad nutritiva de los forrajes (28).

Existen diferentes métodos que permiten estimar la tasa y la extensión de la degradación de los alimentos para predecir el valor nutricional de las forrajeras.

Las técnicas *in vitro* permiten la evaluación rutinaria de la fermentación ruminal empleando fluido ruminal como en la técnica descrita por Tilley y Terry o alternativamente sin la utilización de fluido ruminal sino con la utilización de complejos enzimáticos. Estos métodos ofrecen una estimativa de la digestibilidad potencial de los alimentos sin llevar en consideración los procesos de la dinámica ruminal (29).

La digestibilidad *in vivo* históricamente ha sido utilizada para determinar la degradabilidad aparente de los alimentos, sin embargo, esta técnica no permite cuantificar qué fracción del alimento ha sido degradada en el rumen y qué fracción ha sido degradada en el sistema digestivo posterior, una segunda generación de métodos fue desarrollada incorporando las estimativas de la cinética de degradación en el retículo – rumen. Estas estimativas fueron realizadas a través de la técnica *in situ* o a través de la técnica de producción de gas. Estos métodos son ampliamente utilizados para evaluar el valor energético y proteico de los alimentos para rumiantes, su potencial de ingestión y la presencia de factores anti nutricionales (29)

La técnica *in situ* ofrece la posibilidad de estudiar la degradabilidad ruminal de los alimentos a través de la utilización de sacos de nylon suspendidos en el rumen. Esta técnica ha sido adoptada por el AFRC como método estándar para caracterizar la degradabilidad ruminal del nitrógeno. Esta técnica ha sido escogida debido a su gran aproximación a los resultados *in vivo*. Este método también puede ser usado para describir las características de degradación de los componentes estructurales del forraje (29).

La introducción de nuevas especies forrajeras y el uso de especies nativas; contribuye a una optimización del uso de los recursos alimenticios, mejorando el manejo de las dietas en bovinos procurando con ello un mayor rendimiento en carne y leche; sin embargo, es necesario que las especies forrajeras a utilizar sean evaluadas previamente tanto desde el punto de vista de rendimiento agrícola de la planta, como su valor químico y biológico en el animal. Para tal fin se propone la utilización de la técnica *in situ* como herramienta para estimar el aprovechamiento del alimento en el tracto digestivo del ganado bovino a través de la cinética de desaparición (degradabilidad) del material dentro del rumen (24).

2.2.3. Técnicas para valorar la degradabilidad y digestibilidad de alimentos.

El conocimiento de la degradabilidad y la digestibilidad de los alimentos son fundamentales para establecer su valor nutritivo y por tanto, para la formulación de raciones para rumiantes, el nicho primario del rumiante es la digestión y utilización de material de la pared celular, la evaluación de la cinética de digestión de la pared celular debe hacer pensar en métodos por que podrían utilizarse las fuentes de fibra dietéticas más eficazmente para mejorar la producción rumiante (30)

La degradabilidad ruminal, tiene un valor relativo, pues depende de dos aspectos: velocidad de degradación y velocidad de tránsito ruminal. A su vez, la primera se determina por la solubilidad y estructura molecular, y actividad de los microorganismos y puede afectarse por: el pH, el tamaño de partícula, la relación forraje: concentrado, y otros factores como la ingestión de agua o materia seca, alterando la degradabilidad ruminal (31).

Aunque las determinaciones de la digestibilidad *in vivo* total, incluyendo la degradabilidad *in situ* o *in vivo* parcial o de la bolsa de nylon son consideradas las más exactas, este es un proceso laborioso y costoso que requiere el empleo de altas cantidades de alimento, uso de alta mano de obra y la disposición de instalaciones para su cuidado (32).

Para estimar la degradabilidad efectiva de los alimentos diferentes métodos matemáticos han sido propuestos, por lo tanto propone fijar una tasa de pasaje y sumar paso a paso la cantidad de

alimento degradado durante cada periodo de incubación (31). La estimación de la degradabilidad efectiva (DE) de la fracción potencialmente degradable en el rumen (b) (DEb), es quizá el cálculo más importante en el estudio de la cinética ruminal dado que permite establecer la proporción de fracciones nutricionales que son degradadas y aquellas que escapan a la degradación ruminal. La estimación correcta de este parámetro es necesaria para un adecuado manejo nutricional de los rumiantes y, en consecuencia, para una mejor utilización de los nutrientes (33).

2.2.4. Técnica in situ.

La composición química de un alimento es solamente indicativa de su contenido de nutrimentos, mas no de su disponibilidad para el animal, por lo que es necesario contar con datos sobre la digestibilidad, mientras que, la degradabilidad hace referencia a la cantidad de alimento que se descompone en sus elementos integrantes, mediante procesos biológicos o químicos (23).

Esta técnica permite determinar simultáneamente la cantidad de muestra que es digerida y la tasa a la cual esta digestión se realiza. Permite mantener constantes las condiciones ruminales y variar los sustratos incubados, o variar las condiciones ruminales incubando materiales conocidos (estándar) para determinar el efecto del cambio en el ambiente ruminal sobre la tasa y potencial de degradación de los alimentos (34).

En el aparatado digestivo de los rumiantes, el alimento ingerido se encuentra expuesto a una fermentación pre-gástrica muy extensa, hecho que no se presenta en las otras clases de animales. Este proceso se lleva a cabo en el rumen o panza, que puede considerarse como un gran tanque de fermentación (hasta 200 Lt de capacidad) donde se encuentra un complejo sistema de microorganismos a razón de 25 a 50 mil millones de bacterias por mililitro de fluido ruminal (35)

2.2.5. Métodos de digestibilidad in situ de forrajes

Los métodos para evaluar la digestibilidad in situ de forrajes son el resultado de muchos años de investigación y pruebas de ensayo y error, partiendo desde el material que se va a usar para las bolsas que se ingresan en el rumen, la porosidad que está ligada al material usado, el tamaño de las muestras, la posición de las bolsas en el rumen, el número de bolsas por incubación, entre otros.

Después de intentar con múltiples recursos incluyendo retazos de un paracaídas viejo, la primera prueba de digestibilidad *in situ* fue realizada por Ørskov y colaboradores, quienes establecieron que el nylon es el material más adecuado para hacer las bolsas que se introducen en el rumen, debido a que cuentan con la porosidad y resistencia específicas para poder someterse a las condiciones de la digestión y fermentación ruminal, sin alterar los resultados del bioensayo (36).

Luego Nocek (37), basándose en la técnica de digestibilidad *in situ*, determinó la digestión de la materia orgánica (MO) teniendo en cuenta que está formada por la pared celular. Hizo énfasis en requisitos específicos y condiciones especiales que permiten realizar dicho ensayo. Para esto tuvo en cuenta puntos clave como:

- Porosidad de las bolsas de nylon (40 a 60 μm).
- Tamaño de las partículas de la muestra: granos de cereal y productos de fibra, 5 mm; henos (>80% MS), 5 mm; silos (secados al aire 60 - 70% materia seca [ms] congelados en seco y luego molidos), 5 mm.
- Tamaño de la muestra con respecto a la superficie de la bolsa (10 a 20 mg/cm^2), dieta (alimento para satisfacer las necesidades de dieta del animal, documentar los componentes de la ración, administrar ad libitum).

- Animal o unidad experimental (usar cada animal con las determinaciones de la técnica por analizar, al menos dos replicaciones si sólo se usara un solo animal, manejar los mismos tiempos de alimentación y periodos de inserción de las bolsas en cada animal).
- Incubación preruminal (sumergir las bolsas en buffer o en agua antes de ingresarlas en el rumen).
- Inserción de las bolsas (ingresar las bolsas con intervalos y tiempos específicos lo mismo que en el momento de retirarlas).
- Lavado posruminal (se puede realizar con agua de grifo lavando las bolsas hasta que el agua salga clara, manipulándolas de manera moderada).
- Tiempos de incubación (de 0 a 6 horas: de 3 a 6 puntos de tiempo, de 6 a 24 horas: de 3 a 6 veces, >25 horas: 6 a 12 intervalos).

Nocek (37), determinó que la digestibilidad de la materia orgánica (MO) se aproxima a un 80% en el rumen; esto puede ser una referencia para comparar la digestibilidad de otros forrajes (38).

Las bolsas de nylon con los sustratos por analizar son introducidas en el rumen, previa fistulación ruminal del animal. Los forrajes experimentales son sometidos a un proceso de deshidratación y molido. Las bolsas serán extraídas a periodos predeterminados. Diferentes autores han descrito periodos en los cuales se puede realizar la técnica basados en la publicación de Nocek (37). Zanton y Heinrichs (39), por ejemplo, utilizaron periodos de 1, 2, 4, 8, 16, 24, 48 y 72 horas. Posteriormente, los sacos son recuperados del rumen y llevados al laboratorio para determinar la digestión de la materia seca y estimar los valores de digestibilidad.

Igualmente, se puede estimar la digestibilidad de fracciones de fibra detergente neutra (fdn), materia seca (MS), materia orgánica (MO) (53, 55, 56), por medio de análisis bromatológico de los residuos presentes en los sacos.

Por otro lado, las bolsas de nylon no son necesariamente el único material usado para este tipo de ensayo. Otros materiales han sido tenidos en cuenta para realizar el estudio. En los ensayos de Winterholler *et al.* (40) fue utilizado un material conocido como Dacron, un polyester comercial que proporciona la resistencia y adaptabilidad para realizar el ensayo, pero a un costo es más elevado. Por tanto, no es un material de uso convencional. Hay también trabajos con TNT (tejido no tejido).

Los experimentos que se han realizado para validar la técnica *in situ* como método para estimar la degradabilidad de la pared celular de los forrajes, se fundamentan en la comparación del flujo duodenal de los carbohidratos estructurales en estudios *in vivo* y degradabilidad efectiva calculada a partir de la degradación *in situ* y la tasa de pasaje.

Nozière y Michalet - Doreau (41) reportan que la utilización de la técnica *in situ* conduce a una determinación de la digestión de la pared celular en el rumen. Este cálculo de la digestión ruminal puede ser atribuida a una estimación de la tasa de digestión (42) o al bajo número de bacterias celulolíticas (43) y la baja actividad de las enzimas fibrolíticas dentro de las bolsas de nylon comparados con las condiciones normales del rumen durante el proceso de incubación (44).

Además de la determinación de la digestibilidad y degradación de gran parte de los nutrientes de los alimentos consumidos por los rumiantes, la técnica *in situ* también ha sido empleada como método para predecir las porciones no digeribles de los forrajes, considerando los residuos de materia seca (MS) y de la pared celular como estimadores (45).

Como es evidente, la técnica de digestibilidad *in situ* se caracteriza por analizar varios nutrimentos al tiempo, haciéndola una técnica de gran importancia para la nutrición animal y la zootecnia. Sin embargo, la necesidad de poseer animales con fístulas en el rumen es una limitante, sumado a que esta técnica se realiza en dos momentos diferentes, uno es la actividad que se realiza en el animal y el segundo los análisis externos que están ligados a los laboratorios

de nutrición animal en los cuales se hacen análisis bromatológicos posteriores a la extracción de las muestras del rumen. De la misma forma, el no contar con un laboratorio especializado es otra limitante para la realización del ensayo. Aunque existe la posibilidad de enviar las muestras a laboratorios que presten el servicio, esto acarrearía más costos de los estimados, comparándola con la técnica de digestibilidad *in vitro* de producción de gases, en la que los resultados se obtienen en el mismo lugar de la incubación por medio del uso del transductor de presión.

2.2.6. Métodos de digestibilidad *in vivo* de forrajes

Los métodos de digestibilidad *in vivo* son métodos un poco más costosos, debido a que se deben establecer dietas completas para un grupo de animales, y estos deben ser sometidos a condiciones de jaulas metabólicas para el consumo de un alimento específico y sus heces recolectadas para realizar los estudios respectivos. Estas jaulas metabólicas corresponden a compartimentos en los cuales el animal sólo tendrá acceso al alimento por estudiar y agua, además de permitir la recolección de las heces y la orina, que serán sometidas a pruebas específicas para determinar los nutrientes producto de la digestión: ms, ceniza, proteína, extracto etéreo, fibra cruda (46).

En esta técnica, si se tienen en cuenta los conceptos básicos de digestibilidad, para determinarla simplemente se tendría que obtener la diferencia entre los nutrientes consumidos y los que aparecen en las heces, midiendo cada clase de nutriente; todo esto facilitado por un marcador o colorante que indica el tránsito del alimento desde el inicio hasta final del tubo digestivo. En el caso de la medición de la digestibilidad en los rumiantes, tiende a ser más complicada que una simple recolección de heces, debido a la naturaleza del rumen y sus procesos (47).

Estos procesos en rumiantes pueden ser explicados considerando: como los alimentos consumidos no pasan secuencialmente por el aparato digestivo, sino que tienen que someterse a un proceso de rumia, es decir, al llegar al rumen este va ser regurgitado y remasticado una y otra vez para volver de nuevo al rumen, es imposible determinar el tiempo de digestión de una

porción o la totalidad del alimento suministrado en un momento específico, ya que habrá porciones del alimento que durarán más tiempo en proceso de fermentación ruminal, durante horas o incluso hasta días.

Por tanto, para garantizar el éxito de una prueba de digestibilidad *in vivo* en rumiantes, se debe someter al animal a un periodo de acostumbramiento mínimo de siete días, en el cual sólo se ofrecerá el forraje experimental para permitir que desarrolle una población de bacterias ruminales específicas y necesarias para digerir adecuadamente el alimento de experimentación (47).

Galina y colaboradores en su trabajo reportan que determinaron la MS, el nitrógeno (N), la MO, la FDN, la celulosa y la hemicelulosa, recolectando las heces que fueron sometidas a procesos de secado en una estufa de aire forzado a 70 °C por 36 horas, y su almacenamiento en botellas herméticas. A la orina recolectada durante cinco días consecutivos se le fue agregando ácido sulfúrico (10%) para mantener el pH por debajo de 3; luego se tomaron 100 mL y se congelaron a - 20 °C hasta el momento de los análisis. Adicionalmente, midieron la velocidad de pasaje con la fibra Cr-mordante, dada a través del alimento y recuperada en las heces, en un periodo de 24 y 48 horas (48).

En teoría, parece un proceso simple el recoger las heces y la orina; pero al momento de llevarlo a la práctica, es evidente que se hace tedioso y costoso. Algunas instituciones cuentan con colectores mecánicos costosos. Cuando este procedimiento es realizado con vacas es más difícil la recolección y separación de las heces y la orina; si estas llegasen a mezclarse causarían un error suficiente como para anular la prueba. Todo lo anterior evidencia la dificultad para realizar una prueba de digestibilidad *in vivo* (48).

Se han desarrollado métodos que disminuyen un poco estos obstáculos y de alguna manera amortiguan los costos que acarrear. El principio básico se basa en usar una sustancia que pase por el sistema digestivo con una velocidad más o menos constante y sin absorción; para ello se

utilizan marcadores como el óxido crómico (Cr 2 O 3), de uso restringido por ser cancerígeno; se puede administrar de diversas maneras, ya sea mezclado con el alimento, en cápsulas, homogeneizado en aceite, suministrado en pastillas o en papel impregnado con el mismo. Si bien es de alto costo, es una de las soluciones más prácticas para determinar el pasaje del alimento a través del tracto digestivo de los rumiantes. Otras sustancias que no son absorbidas y que pueden ser utilizadas como indicadores son sustancias que se encuentran formando parte de las plantas que constituyen el alimento, como la lignina, el nitrógeno y alcanos, etc; de esta manera, las heces serán recolectadas con el respectivo indicador y se procederá a analizar, con procedimientos similares a los mencionados previamente, los diferentes nutrimentos presentes en las heces y compararlos con los de los alimentos consumidos (49).

Es evidente que el proceso *in vivo* es extenso, tedioso y costoso, por lo cual, en la actualidad, procesos innovadores como los de digestibilidad *in vitro*, por el método de producción de gases, son más prácticos y acarrear menos costos.

2.2.7. Métodos de digestibilidad *in vitro* de forrajes

Los métodos de digestibilidad de forrajes *in vitro* aparecen en la década de los sesenta con las investigaciones y ensayos de Tilley, quien, usando el licor ruminal de bovinos fistulados, realizó la degradabilidad *in vitro* de 146 forrajes (50). Este tipo de pruebas aportan información acerca de la desaparición de la materia seca por medio de la simulación de digestiones sucesivas. Sin embargo, para esos primeros ensayos, la técnica no ofrecía ninguna información adicional, toda vez que el concepto de la relación entre la cantidad de gas liberado y la digestibilidad de los forrajes no aparecería hasta finales de siglo. A partir de estos ensayos se hicieron modificaciones que permitieron perfeccionar la técnica hasta la obtención de lecturas a través de jeringas y transductores de presión (51).

2.2.8. Cultivos de microorganismos ruminales de corta duración

2.2.8.1. Técnica de gases

Las investigaciones y ensayos realizados a través de los años han determinado que la cinética de digestión que esta técnica permite realizar puede ser evaluada por la desaparición de la FDN o por la medición del gas liberado en la fermentación. Cuando estos métodos son realizados para determinar las características intrínsecas de los alimentos, es importante tener en cuenta que estos mismos no impongan limitaciones en la digestión (52). También hay que tener en cuenta las variaciones entre los animales, la especie donante, el manejo de la alimentación y el tiempo de recolección del inóculo, que pueden afectar la digestibilidad *in vitro*. Por tanto, este tipo de método aún se encuentra en una extensa y constante revisión y reevaluación (53).

Actualmente, para la cuantificación y medición del gas liberado son utilizados métodos automatizados más prácticos y eficientes con respecto a otros, como las jeringas graduadas (67-70). Con frecuencia, estas mediciones son realizadas con sensores electrónicos de presión, los cuales miden la presión de gas liberado en la parte superior de los frascos (71, 69) y equipos automáticos para el registro de datos. Estas mediciones son realizadas con intervalos de tiempo específicos, que permitirán establecer y estimar la cinética de degradación de los forrajes por estudiar (2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas). Así mismo, otros autores (54) realizaron experimentos utilizando dispositivos semiautomáticos, que con la ayuda de transductores de presión hicieron que la recolección de las lecturas fuera más rápida.

Sin embargo, los primeros experimentos con equipos automáticos no registraban la presión ni el volumen de gas liberado, sino que establecían una conversión matemática a partir del peso que ganaban los frascos a medida que el gas era liberado dentro de ellos (55).

En la actualidad, en muchos países se están utilizando métodos que permiten realizar unas lecturas de datos automatizados o semiautomatizados directamente desde los inóculos, lo que permite una fácil recolección de un suficiente número de observaciones para establecer un parámetro de estimación más exacto. No obstante, se requiere una ecuación de regresión que relacione volumen con presión de acuerdo con las condiciones de altura sobre nivel del mar, requisito indispensable para la técnica.

Además de este tipo de ecuaciones que se usan en la práctica del bioensayo, en el constante trabajo de campo se han encontrado cantidad de problemas con la técnica de producción de gas, como variaciones en la composición de los gases producidos en la fermentación (53), errores causados por el tamaño de las muestras (sustratos), la inhabilidad del sistema para distinguir los diferentes sustratos y la producción de amoníaco en el gas liberado. Sin embargo, muchos de estos problemas pueden ser corregidos aislando químicamente la FDN y calculando su comportamiento en la digestión *in vitro*; comparaciones realizadas que evalúan el desempeño con los forrajes enteros y la FDN aislada demuestran comportamientos similares en la cinética de digestión (56).

Otro de los posibles contratiempos para el desarrollo del método *in vitro* es la necesidad de contar con licor ruminal, el cual es extraído necesariamente de animales con fistulación ruminal, proceso quirúrgico sujeto a la legislación de bienestar animal, en países como Colombia. Por ello los investigadores han propuesto usar inóculo de heces de ganado bovino, con el fin de proponer una alternativa para realizar los procedimientos sin fístula ruminal.

Para los métodos de degradación *in vitro* son necesarios elementos con ciertas condiciones específicas para que se pueda llevar a cabo de manera exitosa el ensayo: los sustratos forrajeros que se van a utilizar deben ser deshidratados y pasados por un molino analítico de partículas de 1 mm, que permite mayor degradación por actividad microbiana ruminal (57); un buffer que cumpla con las condiciones de $\text{pH} > 6$, adecuado para la supervivencia y desempeño de los

microorganismos del rumen. Algunos científicos describen que para mantener este tipo de pH es necesario un buffer que contenga una mezcla de bicarbonato-fosfato, así la producción de gas se desarrolla con mayor facilidad (58). Para que este buffer sea un medio apropiado para los microorganismos del rumen, el inóculo debe ser previamente saturado con CO₂, para disminuir la posibilidad de aumento del potencial redox en los componentes del inóculo, es decir, disminuir los estados de oxidación de algunos de los componentes y la presencia de oxígeno; la ausencia de anaerobiosis trae como resultado la pérdida de bacterias celulolíticas y amilolíticas, lo que disminuye notablemente la actividad de degradación dentro del inóculo.

Otros autores como Grants y Mertens reportan que el gaseo continuo con CO₂ permite que haya una colonización del sustrato en menor tiempo y, por lo tanto, una mayor digestión de la FDN (59). Otro factor de gran importancia que se debe tener en cuenta es una incubadora que garantice temperatura constante de 39 °C, similar a la temperatura corporal del donador del licor ruminal, ya que la actividad microbiana, las presiones y el volumen de gas son muy sensibles a cambios en la temperatura de incubación (60).

En la incubación es importante la agitación periódica de los frascos, debido a que la naturaleza del CO₂ tiende a formar soluciones supersaturadas en medios acuosos, lo que traerá como resultado lecturas de presión y volumen incorrectos. Además, el aumento de presión hace que los tapones de los frascos se disparen perdiendo la medida de presión; una leve agitación periódica de los frascos reduce esta tendencia al aumento de presión (60).

Los resultados de la recolección de las presiones tomadas por medio de un transductor de presión son lecturas en psi (Pounds per Inch Square o libras por pulgada cuadrada) (57). Es necesario ajustar estas lecturas mediante ecuaciones que permiten estimar la extensión y la cinética de degradación del alimento durante el proceso fermentativo (61).

2.2.8.2. Método de Daisy II

Este método utiliza la técnica *in vitro* de Goering y Van Soest (62) por medio de un aparato incubador llamado DaisyII®-Ankom Technology; permite estimar la digestión de la materia seca (MS) utilizando tiempos de incubación de 12, 24, 48, 72 y 84 horas. El Daisy ii realiza la digestión en cuatro vasijas a las cuales se inoculan dos litros de licor ruminal diluido al 20%; luego se realiza la determinación de la degradación de FDA y FDN por medio de otros equipos (63).

Este método *in vitro* es otra alternativa para obtener la cinética de degradación de forrajes en los laboratorios, pero a pesar de ser una herramienta más sencilla que Rusitec, descrita después, carece de lecturas de producción de gas; además los costos son muy elevados. En contraste, la técnica de producción de gases tiene un gran número de indicadores, costos más reducidos y su versatilidad la convierte en la mejor elección para realizar este tipo de bioensayos (64).

2.2.9. Cultivos de microorganismos ruminales de larga duración (CMRLD) Rusitec

Las diversas técnicas de digestibilidad han permitido a los diferentes investigadores utilizar sus conocimientos para recrear las condiciones ruminales en una gran variedad de métodos. Rusitec (Rumen Simulation Technique), o técnica de simulación del rumen, es una variante de las técnicas de digestibilidad *in vitro* que recrea dentro de un aparato las condiciones del rumen, permitiendo medir la degradación de los forrajes, la recolección del gas liberado por esta y el efluente que se produce en los frascos. Este sistema trabaja con cuatro recipientes que están dispuestos en una base que contiene agua temperada a 39 °C para mantener las condiciones de temperatura similares a las del organismo animal (65).

Cada frasco está dispuesto con el contenido ruminal y el sustrato que se va a analizar dentro de bolsas de nylon; tienen válvulas de entrada y salida. Las de entrada permiten la inoculación de saliva artificial a los frascos recreando un flujo constante como en el proceso de la rumia. Las válvulas de salida recolectan el efluente producido por la fermentación y digestión de la materia seca, la proteína del alimento y la proteína microbiana. El gas producido se dispone en bolsas y puede ser medido por dispositivos (manómetro) que calculan la presión generada, y los gases (CO₂, CH₄, NH₄ y AGV) son analizados por cromatografía de gases (65).

Por lo regular, esta técnica utiliza la inoculación constante de bolsas de nylon con material (forraje) nuevo y con material previamente inoculado durante dos días. Estos procedimientos se realizan por tiempos prolongados y es necesario disponer de todos los equipos para realizar la prueba; de lo contrario la técnica es imposible de hacer. Para poder manipular el equipo es necesaria la presencia del personal técnico capacitado, lo cual hace que el nivel de dificultad de la técnica sea más alto. Todos estos factores se convierten en limitaciones que hacen que la técnica de producción de gases resulte más factible para estudios de digestibilidad.

En cuanto a las ventajas de los métodos de digestibilidad *in vitro* de producción de gases, considerando los elementos discutidos anteriormente, este método es una alternativa versátil que se acomoda a cualquier tipo de alimento que pueda ser analizado, con la ventaja sobre la técnica *in situ* de que sólo permite el análisis de alimentos de una consistencia sólida y la presencia de animales que tengan una fístula ruminal para introducir las bolsas de nylon.

Varios autores han resaltado las ventajas de la técnica de digestibilidad *in vitro* de producción de gas con respecto a la técnica de digestibilidad *in vivo*, haciendo énfasis en los siguientes puntos: menor costo, menor tiempo para realizarla y, la más importante, la capacidad de mantener las condiciones experimentales con más precisión que los ensayos *in vivo* (66).

Otra de las ventajas de este tipo de ensayo es la capacidad de recolección de datos por medio de métodos semiautomáticos; es decir que las presiones liberadas en los frascos de los inóculos pueden ser medidas por medio de transductores de presión, que conectados a dispositivos electrónicos pueden almacenar dicha información, dando medidas más exactas y confiables.

Mauricio *et al.* (54) realizaron experimentos utilizando un transductor de presión, un convertidor de datos y un computador personal, de manera que todos los datos de las mediciones fueran registrados por un programa computarizado, lo que permitió un almacenamiento más seguro de la información, dando confiabilidad y exactitud en las medidas tomadas desde los inóculos. Comparando y teniendo en cuenta el resultado y desempeño de los primeros ensayos *in vitro* que tomaban sus medidas por medio de jeringas graduadas (61).

2.2.10. Alcances de los métodos de digestibilidad *in vitro* de producción de gases

La técnica *in vitro* de producción de gases ofrece la capacidad de predecir la tasa de digestión de las diferentes fracciones de carbohidratos; es útil para determinar y cuantificar diferencias nutricionales atribuidas a los métodos de preservación de especies forrajeras y estado de madurez de la planta (67), comparando el desempeño de gramíneas y leguminosas en diferentes estados de madurez y de ensilajes de estas mismas.

Los resultados de esta técnica mostraron que las utilidades de los porcentajes de fibra subestiman los valores de energía líquida de los ensilajes, pues, aunque ellos tuviesen los mismos porcentajes de fibra detergente ácida (FDA) que el material original, presentaron menor producción de gas. Estas diferencias son atribuidas a la pérdida de carbohidratos solubles durante el proceso fermentativo de los ensilajes. Igualmente, los ácidos grasos volátiles (AGV) presentes en los ensilajes no representan una importante fuente de energía para los

microorganismos ruminales, como sí lo son los carbohidratos solubles en el material original (67).

Este tipo de ensayos nos permite evaluar la calidad de los alimentos, para detectar diferencias entre los sustratos generados por su madurez, condiciones de crecimiento, especie o cultivo y métodos de preservación (57). Con respecto a la digestibilidad de la FDN, se ha demostrado que la producción de gases está relacionada con la desaparición de la FDN (68). Por otra parte, experimentos realizados con granos de cereales demuestran una alta correlación entre la producción de gas *in vitro* y la disponibilidad del almidón en dichos granos (69). Otros estudios encontraron que la producción de gas acumulada en 24 horas estaba correlacionada con la digestibilidad de la MO determinada *in vivo*.

Esta técnica permite estudiar la degradación de cada uno de los constituyentes del alimento o fracciones alimenticias (monosacáridos, pectinas, almidón, celulosa y hemicelulosa) y así se puede diferenciar qué elementos inhiben y qué otros aumentan la actividad microbiana. De esta manera se puede establecer la cinética de la fermentación, teniendo en cuenta las proporciones de partículas solubles, insolubles pero degradables, y no degradables del alimento (70).

La predicción del consumo es un alcance bastante significativo que también se obtiene por la técnica *in vitro*, lo que demuestra que el consumo de forrajes fue mejor correlacionado con sus características de degradabilidad ruminal que con la digestibilidad en el tracto digestivo total (71). Estudios realizados por Liu *et al.* (72) determinaron que esta técnica ha sido utilizada como una medida de la degradación ruminal de los alimentos y como un indicador del consumo de MS digestible.

Por tanto, la técnica *in vitro* es una herramienta de vital importancia para las ciencias agropecuarias, al estimar la capacidad de degradación de ciertos forrajes que componen la dieta

de las especies ovinas, caprinas y bovinas que serán fuentes de proteína para las poblaciones humanas en las diferentes regiones del mundo.

Además, las especies forrajeras tropicales carecen de estudios que determinen datos específicos como la extensión y magnitud de la fermentación ruminal, la producción de gases relacionados con el efecto invernadero (CH_4), así como su digestibilidad, que no ha permitido la determinación real de su valor nutricional.

2.2.11. Limitaciones de los métodos de digestibilidad *in vitro* de producción de gases.

Una premisa para la investigación con esta técnica, compartida por la gran mayoría de investigadores, es la falta de conformidad y uniformidad en las metodologías; esto es algo en lo que Williams hizo énfasis en su investigación, convirtiéndose en una dificultad constante para el desarrollo de los ensayos (57).

Es evidente que en la actualidad no existen manuales que especifiquen metodologías precisas acerca de la elaboración del buffer, cómo saturarlo de CO_2 y cómo comprobar que esta saturación haya quedado correctamente realizada. La recolección del licor ruminal es llevada a cabo de manera poco técnica, sin un protocolo establecido, lo que permite que haya un gran margen de error al realizar la práctica.

Otro aspecto que ya es común y que se menciona en repetidas ocasiones es la necesidad de animales fistulados para la recolección de licor ruminal. Como es bien sabido, todo tipo de procedimiento quirúrgico para una investigación está regido por normas bioéticas, las cuales no aprueban de manera fácil este tipo de procedimientos fuera del cuidado necesario para estos

animales en poscirugía y el acompañamiento constante para la prevención de enfermedades que se puedan desencadenar a partir del procedimiento.

En el proceso para resolver estas dificultades se mencionan los experimentos de Jones y Barnes (73), quienes han utilizado como alternativa para el inóculo las heces como fuente de microorganismos. Sin embargo, se ha observado que en la experimentación con heces como inóculo son mayores los tiempos de colonización y es menor la capacidad de fermentación, que posiblemente se deba a una menor actividad microbiana en razón a que los microorganismos son originados principalmente en el ciego y el colon y no en el rumen como en la técnica tradicional. La explicación a lo anterior se soporta en que la cantidad de bacterias celulolíticas y otros tipos de microorganismos es mayor en el rumen que en el intestino grueso o en las heces (89, 90); los inóculos fecales pueden contener algunos hongos anaerobios pero muy poca población de protozoarios (74), y, por último, de alguna manera los microorganismos allí contenidos pueden presentar una menor actividad metabólica en contraste con los situados en el de licor ruminal (75). Así pues, se logra evidenciar la reducida fermentación en el ciego y el colon con respecto a la que ocurre en el rumen. Por tanto, este inóculo debe ser objeto de mayor investigación.

2.2.12. Composición de la pared celular de los forrajes.

La pared celular de las plantas está constituida de microfibrillas de celulosa, inmersa en una matriz amorfa compuesta de polisacáridos no celulósicos (hemicelulosa), pectinas, proteínas y lignina. La celulosa es el carbohidrato más abundante en la pared celular de las plantas. La hemicelulosa es un heteropolisacárido cuya función es aglutinar las fibras cristalinas de celulosa, dando consistencia a la pared celular. Los componentes de esta fracción son aldopentosas (xilosa y arabinosa), aldo y cetohexosas (glucosa, galactosa, manosa, 6-deoxihexosas con ramnosa y fructosa) y ácidos urónicos (glucorónico, galacturónico y 4-oximetil galacturónico), los cuales se unen entre sí mediante enlaces; puede ser removida por sustancias álcalis o pérdida en agua, esta fracción de la pared celular es remanente después de remoción de celulosa y pectinas,

después de la celulosa y hemicelulosa, la lignina es el constituyente más común en la pared celular de los forrajes. Es un compuesto polifenólico conformado por derivados del fenilpropano (ácido cumárico, ferúlico, sinápico y los alcoholes cumaril, coniferil y sinapil), forma enlaces éster con la celulosa y hemicelulosa, lo que dificulta su desdoblamiento (76)

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La presente investigación se realizó en la Estación Experimental Tropical Pichilingue (INIAP), ubicada a 75 msnm, en un área agroecológica denominada como bosque húmedo tropical (77).

3.1.1. Coordenada del cantón Quevedo

Tabla 1. Coordenadas del cantón Quevedo.

CANTÓN	LATITUD	LONGITUD	MSM
Quevedo	1°01'43''S	79°27'48''O	75m

3.1.2. Mapeo del sitio donde se realizará la investigación.

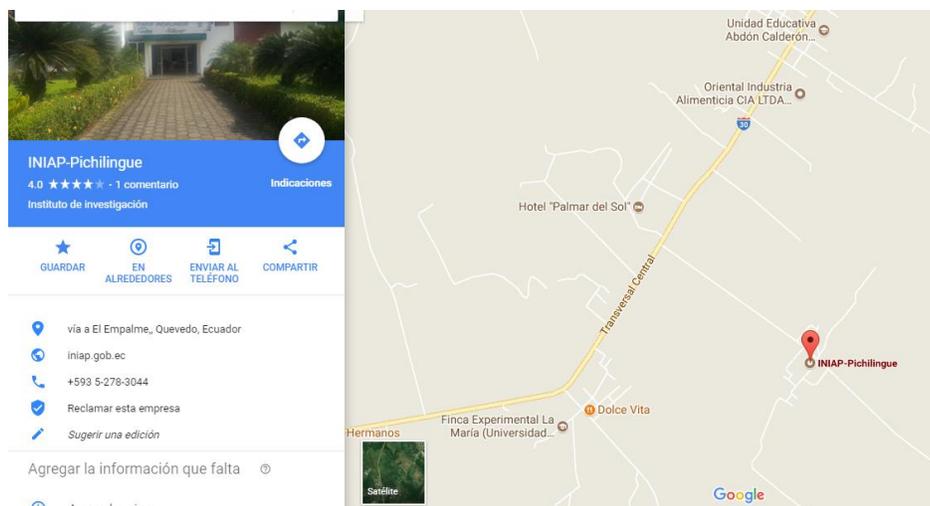


Figura 1. Mapa de la Estación Experimental Tropical Pichilingue (INIAP)

3.2. Tipo de investigación.

La investigación fue de tipo experimental, y tributa a la línea de investigación 11: Comportamiento agronómico, evaluación y mejoramiento de las características nutricionales y métodos de conservación de gramíneas, leguminosas, arboles forrajeros, subproductos agropecuarios y residuos agroindustriales con fines de alimentación de animales domésticos.

3.3. Métodos de investigación.

Se empleó el método de investigación experimental con la determinación cuantitativa de la degradabilidad *in situ* del pasto King Grass fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno cosechado a los 60 días.

3.4. Fuentes de recopilación de información.

Se obtuvo de fuentes primarias con la medición directa de los datos experimentales de las variables analizadas, se usó también fuentes secundarias (libros, revistas indexadas y tesis) para contrastar la información en la discusión.

3.5. Diseño de investigación.

El diseño experimental que se utilizó para el análisis estadístico de la composición química, fue el de Bloques Completamente al Azar, y para evaluar degradabilidad ruminal *in situ*, se empleó el de Bloques Completamente al Azar Generalizados, siendo la característica del suelo donde se cosechara el forraje y el animal los criterios de bloqueo, respectivamente. La edad de cosecha del pasto fue a los sesenta días y los niveles de nitrógeno empleado (0, 25, 50, 75 kg de N/ha) los que fueron los tratamientos. Para la realización de cada repetición se tomó la planta completa. Los datos que se acumularon en el trabajo de campo se guardaron en una base de datos en una hoja de cálculo de Microsoft office 2013 Excel, para luego del estudio ser analizados mediante el programa estadístico SAS, donde se empleó la estadística descriptiva (media aritmética, error estándar,

desviación estándar, coeficiente de variación) e inferencial para lo cual se usó los siguientes modelos lineales aditivos:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + b_j + \varepsilon_{ijk} \tag{1}$$

Donde:

Y_{ij} : Variable de respuesta

μ : Medio general

t_i : Efecto de los tratamientos

b_j : Efecto de los bloques (animal)

ε_{ijk} : Efecto del error experimental.

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + b_j + tb_{ij} + \varepsilon_{ijk} \tag{2}$$

Donde:

Y_{ij} : Variable de respuesta

μ : Medio general

t_i : Efecto de los tratamientos

b_j : Efecto de los bloques (animal)

tb_{ij} : Efecto de la interacción tratamiento por bloque.

ε_{ijk} : Efecto del error experimental.

3.6. Instrumento de investigación.

Como instrumentos de investigación se utilizaron a Microsoft office 2013 Excel, para la creación de la base de datos, un programa estadístico (SAS 2004) para estimación de la estadística descriptiva mediante el ingreso y evaluación de los datos que se recopilaron.

3.7. Variables a evaluar.

3.7.1. Materia Seca.

Se determinó el porcentaje de materia seca a cada tratamiento después de la incubación sometiendo a las muestras al secado en estufa de aire forzado a 65° C por 48 horas, el porcentaje se calculó con la siguiente formula:

$$\%MS = \frac{M. inicial - M. final}{M. inicial} \times 100 \quad (3)$$

Donde:

%MS: Porcentaje de Materia Seca.

MInicial: Muestra inicial antes del secado.

MFinal: Muestra final posterior al secado.

3.7.2. Materia Orgánica.

Se realizó de acuerdo a los métodos descritos por la, AOAC (78) por el método de incineración en seco en mufla hasta 600° C por tres horas, posterior al análisis de MS. El porcentaje de Materia orgánica se determinó con la siguiente fórmula:

$$\%MO = 100 - MI$$

(4)

Donde:

%MO: Porcentaje de Materia Orgánica

%MI: Porcentaje de materia Inorgánica

3.7.3. Materia Inorgánica.

Cenizas.- Se realizó de acuerdo a los métodos descritos por la AOAC (78) por el método de incineración en seco en mufla hasta 600° C. El porcentaje se determinó empleando la siguiente formula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{W - W_o}{S} \times 100$$

(5)

Donde:

%MI: Porcentaje de Materia Inorgánica

W_{cal}: Peso del crisol más muestra calcinada

W_{vacío}: Peso crisol vacío

M_{seca}: Muestra seca

3.7.4. Proteína.

Este procedimiento fue realizado mediante la técnica de Kjeldahl (79) en el que la materia orgánica se convierte en dióxido de carbono (CO₂) y agua (H₂O), mientras que el nitrógeno se reduce a amonio (NH₄)₂SO₄ (80).

Cálculos:

$$Nt (\%bs) = \frac{(T1 - T_{bco.}) \times 1.4 \times N_{SO_4} \times H_2}{MH1 \times MS} \quad (6)$$

$$PB (\%bs) = Nt(\%bs) \times 6.25 \quad (7)$$

Donde:

T1 (ml): Titulación con H₂ SO₄ de la muestra

T_{bco.} (ml): Titulación con H₂ SO₄ del blanco

H₂ SO₄ (N): Normalidad del H₂ SO₄ de titulación

MH1 (g): Peso de la muestra

MS (g/g): Coeficiente de materia seca

***6.25**: El valor asume que todo el nitrógeno del alimento se encuentra en forma de proteína y que está presente en ella en un 16%

3.7.5. Fibra Detergente Neutra (FDN)

La determinación de FDN se realizó en digestor ANKON 200/220 FIBER ANALYZER, por un tiempo de 60 minutos a una temperatura de 90 – 100 °C (80) y se la obtuvo mediante la siguiente formula:

$$FDN(\%bs) = 100 \times \frac{\left\{ (T + FDN) - \left[T1 \times \left(\frac{Tbco2}{Tbco1} \right) \right] \right\}}{MH1 \times MS}$$

(8)

Donde:

%bs: Porcentaje sobre base seca.

MH1: Peso de la muestra.

MS: Coeficiente de materia seca.

T+FDN: Peso de la bolsa+muestra post digestión.

T1: Peso de la bolsa vacía.

Tbco1: Peso de bolsa blanco pre digestión.

Tbco2: Peso de bolsa blanco post digestión

3.7.6. Fibra Detergente Ácida (FDA).

La determinación de FDA se llevó a cabo mediante el digestor ANKON 200/220 FIBER ANALYZER, por un tiempo determinado de 60 minutos a una temperatura promedio de 90 – 100 °C (80) y se la obtuvo mediante la siguiente formula:

$$FDA(\%bs) = 100 \times \frac{\left\{ (T + FDA) - \left[T1 \times \left(\frac{Tbco2}{Tbco1} \right) \right] \right\}}{MH1 \times MS}$$

(9)

Donde:

%bs: Porcentaje sobre base seca.

MHI: Peso de la muestra.

MS: Coeficiente de materia seca.

T+FDA: Peso de la bolsa+muestra post digestión.

TI: Peso de la bolsa vacía.

Tbco1: Peso de bolsa blanco pre digestión.

Tbco2: Peso de bolsa blanco post digestión.

3.7.7. Degradación Ruminal.

Se determinó la degradación ruminal *in situ* de la Materia Seca (MS), Materia Orgánica (MO) y Materia Inorgánica (MI) de cada tratamiento en los siete tiempos de incubación con la siguiente fórmula:

$$\%DIS_{MS;MO;MI} = \frac{Mpre - Mpost}{Mpre} \times 100$$

(10)

Donde:

%DIS_{MS; MO; MI}: Porcentaje de degradación *in situ* de la MS, MO o MI.

Mpre: Materia pre-incubada

Mpost: Materia post-incubada

3.8. Manejo del experimento.

3.8.1. Preparación del pasto.

Se realizó el corte de igualación al lote de King Grass donde fue fertilizado con cuatro niveles de nitrógeno y a los 60 días de edad y fue cosechado para extraer el material a evaluar, el cual fue secado en una estufa a 65° C por 48 horas para determinar su materia seca parcial, posteriormente fue molido a 2 mm.

3.8.2. Pruebas de degradabilidad *in situ*.

Para la prueba de digestibilidad *in situ* se depositaron 10 gramos de muestra molida a 2 mm en el interior de bolsas de nylon de 10 x 20 cm con un tamaño de poro de $50 \pm 3 \mu\text{m}$ (previamente secadas a 65° C por 48 horas determinando su peso seco), incubando el material en el interior del rumen en periodos de tiempo de 0, 3, 6, 12, 24, 48 y 72 horas. Finalmente se retiraron las muestras y fueron lavadas con agua corriente, y secadas en una estufa a 65° C por 48 horas. Para los análisis concernientes.

3.9. Tratamiento de los datos

El análisis de datos se realizó mediante el ANDEVA y los promedios fueron separados mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), con la utilización del paquete estadístico SAS.

3.10. Recursos humanos y materiales.

3.10.1. Recursos Humanos.

Talento humano que contribuyó en la realización del presente proyecto de investigación:

- Coordinador del Laboratorio RUMEN Ing. David Zapatier, M.Sc.
- Administrador del área de ganadería INIAP Dr. Luis Pinargote
- Director del proyecto de investigación Dr. Juan Avellaneda
- Estudiante Denisse Arana Sánchez
- Asistente de laboratorio

3.10.2. Materiales.

- Espátula
- Bomba de vacío
- Pinza Universal
- 168 bolsas de nylon para degradabilidad 5x10cm ANKOM Technology
- Mufla (hasta 600 °C)
- Estufa (65 °C)
- Desecador con sílica gel
- Balanza analítica (0,0001g)
- Crisoles de porcelana
- Cajas de cartón
- Bandejas de aluminio
- Cadena de acero galvanizado 1m
- Ligas y piola
- 4 bovinos Brahman fistulados

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Resultados y Discusión.

Basados en los resultados presentados en la tabla 2 se puede evidenciar que existió efectos significativos de la fertilización nitrogenada sobre el contenido de materia seca (%) del pasto King grass (*Pennisetum purpureum*), observándose el mayor valor (23.08) ($P < 0.05$) cuando este fue fertilizado con 75 kg de N ha⁻¹, al ser comparado, con 0 (testigo: sin fertilización), 25 y 50 kg de N ha⁻¹. El contenido de materia seca (MS) en función a la edad del pasto estudiado en esta investigación (19.77% de MS, a los 60 días), fue mayor que el reportado por Kariuki *et al.* (81), similar con el indicado por Juma *et al.* (82), Vidal *et al.* (83) y diferente con el reportado por Gonzáles *et al.* (84) y Ansah *et al.* (85), quienes a la misma edad presentaron un contenido de materia seca del 47.85%, pudiéndose deber esto a las condiciones climáticas y de suelo donde este pasto fue cosechado, sobre todo por el nivel de temperatura (34°C) que fue evidentemente mayor al reportado en la presente investigación (24.4 °C- comunicación personal estación meteorológica del Instituto Nacional De Investigaciones Agropecuarias-INIAP).

Por otra parte, Arshad *et al.* (86), encontró resultados similares a la presente investigación, en términos del efecto que tiene la fertilización nitrogenada sobre el mejor contenido y producción de MS del pasto *Pennisetum purpureum*, y Munari *et al.* (87) sobre el *Megathyrsus maximum* cv. *Mombasa*; siendo estas mayores con niveles incrementales de nitrógeno, asociando esta condición a que el nitrógeno es un elemento básico y fundamental para el crecimiento de los pastos y forrajes, por la mayor estabilidad, funcionalidad y multiplicación celular (88), así como que el incremento del contenido y la producción de materia seca por efecto de la fertilización nitrogenada se debe al crecimiento acelerado, la mayor producción de hojas y tallos que conlleva a una mayor expansión de la parte aérea de la planta (89).

De acuerdo a Martha *et al.* (90) la producción de forraje de las plantas esta en respuesta a la fertilización nitrogenada, tiene usualmente un efecto lineal, o cuadrático (91) el cual puede variar dependiendo del potencial genético de los cultivares o especies; la diferencia entre especies en repuesta a la aplicación de nitrógeno se refleja en las características morfológicas, fisiológicas y fenológicas de las plantas forrajeras así como de las características ambientales,

aplicación de fertilizantes, temperatura, suministro de agua y características de suelo e intensidad en las características de foliación.

Con base en los resultados obtenidos (tabla 2) no existió diferencias ($P > 0.05$) en el contenido (%) de materia orgánica (MO), siendo el valor de la presente investigación inferior al reportado por Zetina-Córdoba *et al.* (92), Kozloski *et al.* (93), Kozloski *et al.* (94) y Valenciaga *et al.* (95) para el pasto (*Pennisetum purpureum*) a los 60 días de edad. Por otra parte, al evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada en este estudio no se evidencio cambio en el componente orgánico de la planta, datos que discrepan con los reportados por Abdi *et al.* (96), quienes al evaluar el efecto de la aplicación de urea sobre el valor nutritivo de *Cenchrus ciliaris* y *Panicum Maximum* reportaron un mayor contenido de MO cuando estas gramíneas fueron fertilizadas. Sin embargo, hay reportes que la aplicación de nitrógeno provoca disminución del contenido de MO ($P < 0.05$) en pasturas de Rye-grass, con la fertilización nitrogenada (97). Por su parte, Afzal *et al.* (98) reportaron una disminución lineal del contenido de MO por la aplicación de nitrógeno; sin embargo, Mohammad *et al.* (99) no reportaron efecto alguno sobre el contenido de MO cuando se adiciono al suelo nitrógeno como fuente de fertilización.

En el mismo sentido, el contenido (%) de materia inorgánica (MI, cenizas) (tabla 2) no presentó diferencias ($P > 0.05$) siendo el valor de la presente investigación superior al reportado por Kabi *et al.* (100), Kozloski *et al.* (94) y Valenciaga *et al.* (95) para el pasto (*Pennisetum purpureum*) a los 60 días de edad, y concomitantemente, la fertilización nitrogenada en este estudio no provocó cambio en el componente inorgánico de la planta, datos que discrepan con los reportados por Abdi *et al.* (96), quienes reportaron un mayor contenido de MI ($P < 0.05$) cuando el *Cenchrus ciliaris* y el *Panicum Maximum* fueron fertilizadas con urea. No obstante, hay reportes que la aplicación de nitrógeno provoca incremento del contenido de MI ($P < 0.05$), en pasturas de Rye-grass con la fertilización nitrogenada (97). En este sentido, Afzal *et al.* (98) reportaron una incremento lineal del contenido de MI por la aplicación de nitrógeno; empero, otros autores como Mohammad *et al.* (99) no encontraron cambios en el contenido de MI cuando el pasto fuera fertilizado con urea.

El contenido (%) de proteína total (tabla 2) del pasto *Pennisetum purpureum* en esta investigación, presentó valores inferiores a los reportados por Valenciaga *et al.* (101), Kabi *et al.* (100), y Manaye *et al.* (102), similares a los indicados por Singh *et al.* (103), pero superiores a los logrados por Chacón y Vargas (104) y Chacón y Vargas. Por otra parte, cuando se evaluó los cambios en el contenido de proteína por efecto de la fertilización con urea no se observó incremento en esta variable por la aplicación creciente de esta fuente nitrogenada; en este sentido Márquez *et al.* (105), Gierus *et al.* (106) reportaron respuestas similares en el contenido de proteína del forraje de *Pennisetum purpureum* a la aplicación creciente de nitrógeno.

Por otra parte, existen investigaciones (69-72-107) en la que la aplicación de nitrógeno de manera progresiva provocó un aumento en el contenido de proteína de la planta; siendo este factor determinado por la presencia de nitrógeno en forma inorgánica (108) (art. 168), o al incremento de la presencia de aminoácidos libres y pequeños péptidos que se almacenan en la planta de acuerdo a la presencia de este mineral en el suelo (89). Es importante indicar que existe una necesidad que los forrajes utilizados en la producción animal contengan un nivel máximo de proteína, toda vez, que como lo indica Van Soest (109) el contenido de proteína de los forrajes deben ser de por lo menos de 7% de la MS, ya que por debajo de este nivel hay una reducción en la digestión, debido al inadecuado nivel de nitrógeno necesario para el crecimiento de microorganismos ruminales, que provoca una reducción en su población y, consecuentemente, disminución de la digestibilidad y consumo de la MS. Por lo cual, la mayor concentración de proteína en los forrajes es necesaria para encontrar los requerimientos de este nutriente para los animales; si bien es cierto en la presente investigación no hubo efecto de la aplicación de nitrógeno al suelo, con la finalidad de incrementar el contenido de proteína de la planta, la presencia natural de este mineral permitió que los tratamientos estudiados favorecieran a la presencia de niveles por encima de los requerimientos mínimos de proteína.

La concentración de fibra detergente neutra (FDN) es correlacionada relativamente con el consumo voluntario de alimento de los animales y con la calidad de los forrajes. En esta investigación este componente estructural de la pared celular de la planta no presentó diferencias

($P > 0.05$) por efecto de los niveles de nitrógenos estudiados (tabla 2). Estos resultados son corroborados por Quadros y Rodrigues (110), quienes investigaron niveles de nitrógeno de 101.5, 145, 188.5 y 232 kg ha⁻¹ aplicados al pasto Tanzania y Mombasa (*Panicum maximum*), verificando que la concentración de FDN de hojas y tallos no sufrieron un efecto definido por la aplicación de fertilización nitrogenada. Víctor *et al.* (111), también obtuvieron respuestas no significativas para la FDN, cuando estudio niveles incrementales de nitrógeno aplicados al Pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) durante la estación lluviosa atribuyendo este fenómeno a la acelerada madurez de la planta el cual es favorecida a la condición asociativa de la aplicación de nitrógeno, lo que limita su efecto benéfico sobre la concentración de FDN.

Costa *et al.* (112), encontraron efectos lineales negativos del nivel creciente de nitrógeno sobre el contenido de FDN del pasto Xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. Xaraés); resultados similares fueron reportados Benett *et al.* (113) y Cecato *et al.* (114), cuando evaluaron la producción y composición bromatológica del pasto *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Este comportamiento, según los autores indicados anteriormente se evidenció de manera similar para el contenido de fibra detergente acida (FDA), igual que lo reportó Abdi *et al.* (96) y Astigarraga *et al.* (97), siendo contrario a la presente investigación donde no se evidencio cambio ($P > 0.05$) por la aplicación de nitrógeno al suelo. Sin embargo Gierus *et al.* (106), informaron respuestas diferentes y discrepantes, ya que el contenido de FDA incremento por efecto de la fertilización nitrogenada. Por otra parte, en la presente investigación el contenido de hemicelulosa no presentó diferencias ($P > 0.05$), al igual que lo indicado por Costa *et al.* (112), Benett *et al.* (113) y Cecato *et al.* (114).

Tabla 2. Efecto del nivel de nitrógeno (kg ha⁻¹) sobre la composición química del pasto King grass cosechado a los 60 días.

Composición Química (%)	Nivel de nitrógeno (kg hx ⁻¹)								EEM	CV%	Probabilidad
	0	25	50	75							
MS	19.77 z	21.77 x	20.73 y	23.08 w					0.125	1.01	<.0001
MO	83.53 w	82.98 w	83.56 w	83.25 w					0.716	1.49	0.9301
MI	16.47 w	17.02 w	16.44 w	16.75 w					0.716	7.43	0.9301
P	10.14 w	9.97 w	10.78 w	10.63 w					0.946	15.77	0.9145
FDN	74.44 w	75.83 w	75.17 w	71.78 w					1.426	3.33	0.2950
FDA	41.72 w	43.08 w	42.38 w	40.33 w					1.176	4.86	0.4585
Hemicelulosa	32.72 w	32.76 w	32.78 w	31.45 w					0.659	3.52	0.4608

^{w,x,y,z} Promedios con idéntico literal, son iguales estadísticamente según Tukey (P<0.05)

MS: Materia Seca; **MO:** Materia Orgánica; **MI:** Materia Inorgánica; **P:** Proteína; **FDN:** Fibra Detergente Neutra; **FDA:** Fibra Detergente Acida; **H:** Hemicelulosa.

Según lo reportado por Chacón y Vargas (104) el pasto *Pennisetum purpureum* de 60 días de cosecha a 48 horas de incubación ruminal, posee una degradabilidad de 79.24%; sin embargo, en la tabla 3, donde se presentan los resultados de la degradabilidad *in situ* de la MS (DISMS), se puede evidenciar que excepto a las 48 horas de incubación, existió diferencias estadísticas entre los tratamientos (P<0.05), sin observarse una relación directa del efecto del nivel de nitrógeno sobre esta variable, ya que varios tratamientos compartieron comportamientos similares. Contrario a lo encontrado en la presente investigación Waramit *et al.* (115), observaron que la degradabilidad de la MS de switchgrass disminuyó por efecto de la aplicación de nitrógeno al suelo, sin embargo estos mismos autores no encontraron efecto de la fertilización nitrogenada con los otros pastos que estudiaron, demostrando así que no existe una relación directa entre la aplicación de nitrógeno al suelo y el incremento o disminución de la degradabilidad de la MS de los pastos, sino más bien que ello depende de una serie de características asociadas al suelo y a las especies en estudio.

Por otra parte, para el parámetro de degradabilidad ruminal asociado a la fracción soluble de la MS (*a*) se puede evidenciar que existió diferencias entre los tratamientos (P<0.05), observándose un mayor valor para el nivel de fertilización de 25 kg de nitrógeno por hectárea,

no obstante, la fracción insoluble pero potencialmente degradable (**b**), y la degradabilidad potencial, demostró supremacía con un nivel de fertilización de 50 kg de nitrógeno por hectárea. sin embargo, la tasa de degradabilidad, la degradabilidad efectiva al 2 y 5% de pasaje no presentaron diferencias estadísticas, pero, la degradabilidad efectiva con una tasa de pasaje del 8% demostró un mayor valor con la utilización de 25 kg de nitrógeno. Para Kariuki *et al.* (81), el pasto *Pennisetum purpureum* presento un mayor valor de la fracción soluble (**a**), similar valor de la fracción b y de la tasa de pasaje, mayor valor de la fracción potencialmente degradable y similar de la degradabilidad efectiva, a lo reportado en la presente investigación.

Por otra parte Cárdenas *et al.* (116) al estudiar la degradabilidad del pasto maralfalfa (*Pennisetum sp*) encontró que la fracción soluble (**a**) fue superior (44.77%) al reporto en la presente investigación (15.66% aproximadamente), y estos dos inferiores a lo reportado por Correa cuando estudio al pasto kikuyo de 56 día; lo aterior demuestra una desventaja comparativa de lo reportado en la presente investigación para el pasto King grass, en lo referente al posible consumo voluntario de los alimentos de los animales, ya que se conoce que la fracción soluble corresponde mayormente al contenido celular, y contribuye muy poco al llenado del rumen lo que permitirá mayor espacio disponible en este, y, por tanto, un mayor consumo voluntario (117).

En relación a la fracción degradable en el tiempo (**b**), Correa *et al.* (118) obtuvieron para el pasto maralfalfa un valor de 57.3%, siendo este superior al reportado en la presente investigación. Similar a lo anterior Gómez y Gómez (119) al estudiar el pasto CT-115 (*Pennisetum sp*) evidenciaron un valores superior (60.61%) de la fracción **b**; y de 0.057% por hora para la tasa de degradación, sin embargo, el valor de la fracción soluble (**a**) fue inferior (12.27%) al reportado en el presente estudio (15.66% aproximadamente). En el mismo sentido Abdi *et al.* (96), al evaluar los parámetros de degradabilidad de *Cenchrus ciliaris* y el *Panicum Maximum*, encontraron que la fracción **a** fue mayor cuando los pastos fueron fertilizados con urea como fuente de nitrógeno; demostrando con lo anterior que la fertilización mejora el contenido del componente soluble de la células vegetales.

Tabla 3. Efecto del nivel de nitrógeno (kg ha⁻¹) sobre degradabilidad ruminal *in situ* (%) de la materia seca (MS)

Hora de incubación	Nivel de nitrógeno (kg hx ⁻¹)				EEM	CV%	Probabilidad
	0	25	50	75			
0	17.70 xy	18.70 x	18.02 xy	17.13 y	0.298	4.71	<0.0144
3	18.72 xy	19.16 x	18.33 xy	18.01 y	0.214	3.26	<0.0097
6	22.78 x	22.56 xy	20.98 z	21.42 yz	0.295	3.81	<0.0012
12	30.34 y	33.52 x	30.88 y	30.89 y	0.491	4.43	<0.0013
24	41.16 x	40.33 xy	40.01 xy	38.04 y	0.718	5.09	<0.0438
48	52.14 x	51.86 x	51.43 x	50.71 x	0.448	2.46	0.1649
72	56.99 x	55.82 xy	57.21 x	55.08 y	0.452	2.27	<0.0128
Parámetros de degradabilidad (%)							
a	15.66 y	16.74 x	15.62 y	15.33 y	0.223	3.98	<0.0021
b	44.01 y	43.76 y	46.25 x	42.48 y	0.429	2.75	<0.0001
c	40.33 xy	39.50 yz	38.13 z	42.19 x	0.498	3.52	<0.0003
DP	59.67 yz	60.50 xy	61.87 x	57.81 z	0.498	2.35	<0.0003
kd	0.04 x	0.04 x	0.03 x	0.04 z	0.002	12.85	0.4387
DE 2%	44.22 x	44.59 x	44.33 x	42.48 x	0.534	3.44	0.0513
DE 5%	34.46 x	34.85 x	34.07 x	33.00 x	0.497	4.13	0.0909
DE 8%	29.69 xy	30.17 x	29.24 xy	28.44 y	0.428	4.12	<0.0498

^{x, y, z} Promedios con idéntico literal, son iguales estadísticamente según Tukey (P<0.05)

a: Fracción soluble; **b:** Fracción insoluble pero potencialmente degradable; **c:** Fracción indegradable; **DP:** Degradabilidad Potencial; **kd:** Tasa de degradabilidad; **DE:** Degradabilidad efectiva.

De manera similar la degradabilidad *in situ* de la materia orgánica (DISMO) exceptuando a las 3, 24 y 48 horas, presentó diferencias estadísticas (P<0.05), donde a las 0 horas el menor valor de degradabilidad lo presentó el tratamiento testigo, sin la existencia de diferencia entre los tratamientos fertilizados. A las 6 horas de incubación el tratamiento con 50 kg de nitrógeno por hectárea evidenció la menor tasa de degradación ruminal mientras que las 72 horas el mayor valor fue para el nivel de 50 kilogramos de nitrógeno por hectárea, tratamiento que fue estadísticamente igual al testigo y el de mayor nivel de fertilización, cabe indicar que no existió un efecto lineal entre el nivel de nitrógeno y el comportamiento de esta variable (DISMO). Cabe indicar que los resultados de la DISMO, de la presente investigación presenta similitud con los datos presentados por Kariuki *et al.* (81), quien evaluaron la digestibilidad del *Pennisetum*

purpureum y reportaron un valor del 57.1%, dato equivalente al mayor tiempo de incubación del presente ensayo.

Similarmente, al comportamiento presentado por la DISMS, los parámetros de degradabilidad de la DISMO del *Pennisetum purpureum*, mantuvieron un comportamiento no lineal a la aplicación de nitrógeno al suelo. Empero, la fracción soluble de la MO (**a**) fue mayor para los tratamientos con 25 y 75 kg de nitrógeno por hectárea, mientras que la fracción insoluble pero potencialmente degradable de la MO (**b**) fue mayor para el tratamiento con 0 y 50 kg de nitrógeno por hectárea. la degradabilidad potencial de esta variable fue mayor ($P < 0.05$), con 50 kg de nitrógeno por hectárea; aunque, no existió efecto del nitrógeno para las variables de degradabilidad efectiva y tasa de degradabilidad.

Tabla 4. Efecto del nivel de nitrógeno (kg ha⁻¹) sobre degradabilidad ruminal in situ (%) de la materia orgánica (MO)

Hora de incubación	Nivel de nitrógeno (kg ha ⁻¹)				EEM	CV%	Probabilidad
	0	25	50	75			
0	13.89 y	15.58 x	15.66 x	15.37 x	0.308	5.76	<0.0027
3	15.54 x	16.33 x	15.61 x	16.12 x	0.212	3.76	0.0519
6	20.39 x	20.18 x	18.03 y	20.12 x	0.373	5.35	<0.0012
12	28.40 y	32.18 x	29.32 y	30.07 xy	0.600	5.66	<0.0028
24	40.81 x	39.84 x	39.85 x	38.49 x	0.755	5.38	0.2312
48	53.26 x	53.07 x	52.77 x	52.71 x	0.493	2.63	0.8420
72	58.92 xy	57.57 y	59.52 x	57.65 xy	0.468	2.27	<0.0225

Parámetros de degradabilidad (%)							
a	11.86 Z	13.54 x	12.53 yz	13.29 xy	0.217	4.80	<0.0002
b	50.38 X	49.56 y	52.49 x	47.86 z	0.524	2.96	<0.0001
c	37.76 X	36.87 y	34.98 y	38.86 x	0.559	4.26	<0.0013
DP	62.24 Y	63.10 y	65.02 x	61.14 y	0.559	2.52	<0.0013
Kd	0.04 X	0.03 x	0.03 x	0.03 x	0.002	13.13	0.1598
DE 2%	43.93 X	43.70 x	43.73 x	43.02 x	0.448	2.91	0.5251
DE 5%	32.79 X	32.79 x	32.24 x	32.34 x	0.413	3.59	0.6815
DE 8%	27.43 X	27.71 x	26.98 x	27.32 x	0.343	3.55	0.5265

^{x, y, z} Promedios con idéntico literal, son iguales estadísticamente según Tukey ($P < 0.05$)

^z

a: Fracción soluble; **b:** Fracción insoluble pero potencialmente degradable; **c:** Fracción indegradable; **DP:** Degradabilidad Potencial; **kd:** Tasa de degradabilidad; **DE:** Degradabilidad efectiva.

En la tabla 5 se puede observar que la biodisponibilidad *in situ* de la materia inorgánica (BISMI) presentaron diferencias ($P < 0.05$); donde el menor valor se presentó para el tratamiento con 75 kg de nitrógeno por hectárea, debiendo indicar que hubo similitud estadística entre los demás tratamientos estudiados. En este sentido Barrera *et al.* (120) presentaron valores superiores para la biodisponibilidad de la MI de tres especies de *Pennisetum purpureum*. Por otra parte, la fracción soluble de la MI (*a*) presentó similitud ($P > 0.05$) entre los niveles de 0 y 50 kg de nitrógeno por hectárea, siendo estos superiores al tratamiento con 75 kg de nitrógeno aplicado al suelo; sin embargo, la fracción insoluble pero potencialmente biodisponible (*b*) de esta variable no presentó cambios por aplicación de nitrógeno al suelo. En lo referente a la tasa de pasaje no hubo diferencia entre los tratamientos sobre esta variable, sin embargo, la biodisponibilidad efectiva (2, 5 y 8%) fue mayor ($P < 0.05$) para el tratamiento efectivo.

Tabla 5. Efecto del nivel de nitrógeno (kg ha⁻¹) sobre degradabilidad ruminal *in situ* (%) de la materia inorgánica (MI)

Hora de incubación	Nivel de nitrógeno (kg hx ⁻¹)				EEM	CV%	Probabilidad
	0	25	50	75			
0	37.66 w	34.53 w	30.09 x	26.31 x	1.079	9.44	<.0001
3	35.36 w	33.49 wx	32.22 x	27.82 z	0.738	6.48	<.0001
6	35.33 w	34.62 w	35.99 w	28.16 x	0.651	5.49	<.0001
12	40.52 w	40.32 w	38.87 w	35.13 x	0.544	3.97	<.0001
24	42.98 w	42.83 w	40.86 w	35.67 x	0.641	4.47	<.0001
48	46.27 w	45.72 wx	44.62 x	40.31 y	0.353	2.26	<.0001
72	46.89 w	46.93 w	45.44 w	41.70 x	0.471	2.94	<.0001
Parámetros de degradabilidad (%)							
a	35.43 w	32.97 wx	29.98 x	25.73 y	0.918	8.36	<.0001
b	13.20 w	15.88 w	15.55 w	17.25 w	1.044	19.09	0.0875
c	51.38 xy	51.14 y	54.47 xy	57.01 w	0.788	4.16	<0.0002
DP	48.62 xy	48.86 w	45.53 xy	42.99 y	0.788	4.79	<0.0002
Kd	0.04 w	0.04 w	0.07 w	0.05 w	0.008	47.11	<0.0700
DE 2%	43.78 w	43.14 w	41.69 x	37.30 y	0.249	1.70	<.0001
DE 5%	40.86 w	39.79 x	38.69 y	33.69 z	0.262	1.93	<.0001
DE 8%	39.47 w	38.14 x	36.97 x	31.86 y	0.309	2.39	<.0001

^{x, y, z} Promedios con idéntico literal, son iguales estadísticamente según Tukey ($P < 0.05$)

a: Fracción soluble; **b:** Fracción insoluble pero potencialmente degradable; **c:** Fracción indegradable; **DP:** Degradabilidad Potencial; **kd:** Tasa de degradabilidad; **DE:** Degradabilidad efectiva.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

Basados en los resultados obtenidos se puede concluir que:

- Existió un efecto positivo del nivel de fertilización con urea sobre el contenido de la materia seca del pasto *Pennisetum purpureum*, superando en todos los casos al tratamiento testigo, respuesta que fue estadísticamente significativa. Sin embargo, no se presentó el mismo fenómeno sobre los demás componentes químicos de la planta.
- No se evidencio respuesta clara del nivel de fertilización sobre los parámetros de degradación ruminal de la materia seca, materia orgánica e inorgánica del pasto *Pennisetum purpureum*, toda vez, que en algunas variables existieron similitud con el testigo, mientras que en otra se encontró discrepancias.

5.2. Recomendaciones

Sustentados en los resultados obtenidos se pueden efectuar las siguientes recomendaciones:

1. Efectuar nuevas investigaciones con mayores valores de nitrógeno ya que es posible que la carencia de resultados positivos por la adición de urea en los niveles estudiados, se deba al estrecho rango evaluado en el presente estudio.
2. Realizar investigaciones donde se evalúen la fertilización de otros minerales además de nitrógeno, con la finalidad de evaluar la existencia de interacciones que permitan mejorar la composición química y los parámetros de degradación ruminal de materia seca, orgánica y biodisponibilidad de la inorgánica.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFÍA

1. Verdecia DM, Ramírez JL, Leonard I, Álvarez Y, Bazán Y, Bodas R, et al. Calidad de la *Tithonia diversifolia* en una zona del Valle del Cauto. Revista electrónica de Veterinaria. 2011; 12: p. 1-13.
2. INTA. Los Subproductos agroindustriales en la alimentación de rumiantes Buenos Aires; 2002.
3. Isaguirre F, Martínez T. El uso de árboles multipropósito como alternativa. tecnología en Marcha nicaragua; 2008.
4. Leonard L, Uvidia H, Torres V, Andino M, Benitez D, Ramirez J. La curva de crecimiento del *Pennisetum purpureum* vs King grass en la amazonia Ecuatoriana. REDVET. 2014.
5. Cardona E, Rios L, Peña J. Disponibilidad de variedades de pasto y forraje como potenciales materiales lignocelulosicos para la producción de bioetanol en Colombia Colombia; 2012.
6. FAO. Seminario taller sobre control sanitario de la ganadería bovina en el Ecuador. 2007.
7. Censo Nacional Agropecuario. El sector Agropecuario Quito; 2000.
8. Mwendia SW, Yunusa IAM, Whalley RDB, Sindel BM, Kenney D, Kariuki IW. Use of plant water relations to assess forage quality and growth for two cultivars of Napier grass (*Pennisetum purpureum*) subjected to different levels of soil water supply and temperature regimes. Crop and Pasture Science. ; 64: p. 1008-1019.
9. QADIR , NOBLE AD, CHARTRES. ADAPTING TO CLIMATE CHANGE BY IMPROVING WATER PRODUCTIVITY OF SOILS IN DRY AREAS. land degradation & development. 2011;: p. 1-10.
10. Ramos Trejo , Canul Solis J, Duarte Vera. PRODUCCIÓN DE TRES VARIETADES DE *Pennisetum purpureum* FERTILIZADAS CON DOS DIFERENTES FUENTES NITROGENADAS EN YUCATÁN, MÉXICO. Bio ciencias. 2013; 2: p. 60-68.
11. VINAY RAJ DJ, PALLED YB. Response of hybrid napier genotypes to nitrogen levels. Karnataka Journal of Agricultural Sciences. 2014; 27: p. 74-75.
12. Mejía-Taborda AC, Ochoa-Ochoa , Medina-Sierra M. Efecto de diferentes dosis de fertilizante compuesto en la calidad del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst. Ex Chiov.). Pastos y Forrajes. 2014; 37: p. 31-37.

13. Soto C, Valencia , Galvis RD, Correa HJ. Efecto de la edad de corte y del nivel de fertilización nitrogenada sobre el valor energético y proteico del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). 2005; 18: p. 17-26.
14. Felix TL, Loerch SC, Fluharty FL. Protein supplementation for growing cattle fed a corn silage-based diet. *The Professional Animal Scientist*. 2014; 30: p. 327–332.
15. Chedly K, Lee S. Uso del ensilaje en el tropico privilegiando opciones para pequeños campesinos. FAO: Ensilaje de subproductos agricolas como opcion para los campesinos. 2001;; p. 87-97.
16. Minson D. Forage in ruminant Nutrition New York: Academi Prees; 1990.
17. Araya M, Boschini C. Produccion de forraje y calidad nutricional de variedades de *Pennisetum purpureum* en la meseta central de Costa Rica. *Agronomia Mesoamerica*. 2005;; p. 37.
18. Purdue University. Glossary of Forage Terms. [Online].; s/f [cited 2018 Enero 3. Available from: <https://www.agry.purdue.edu/ext/forages/Forage%20Glossary-2010.pdf>.
19. Allen , Batello , Berretta , Hodgson , Kothmann , McIvor J, et al. An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science*. 2011; 66: p. 2-28.
20. Bates G, Rius A, Rhinehart , Nave , Mulliniks , McIntosh. Forage Analysis Definitions. [Online].; 2015 [cited 2018 Enero 3. Available from: <https://extension.tennessee.edu/publications/Documents/SP774.pdf>.
21. Ball , Collins , Lacefield , Martin , Mertens , Olson , et al. Understanding forage quality. [Online].; s/f [cited 2018 Enero 3. Available from: <https://www.uky.edu/Ag/Forage/ForageQuality.pdf>.
22. INATEC. Manual del protagonista Pasto y Forraje. 2016;; p. 1-96.
23. Shimada A. Nutricion Animal. 2003.
24. Gomez H, Molina V, Rubio K. Evaluacion de la degradabilidad ruminal de materiales forrajeros en dos sistemas de produccion ganadera a traves de tecnica in situ El salvador; 2007.
25. Jeranyama P, Garcia AD. Understanding Relative Feed Value (RFV) and Relative Forage Quality (RFQ). [Online].; 2004 [cited 2018 Enero 3. Available from: https://openprairie.sdstate.edu/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://www.google.com.ec/&httpsredir=1&article=1351&context=extension_extra.

26. Chacon Hernandez P, Vargas Rodriguez C. Digestibilidad y calidad del Pennisetum purpureum CV. King grass a tres edades de rebrote. *Agronomia Mesoamerica*. 2009; 20(2).
27. Chacon p, Vargas C. Consumo de Pennisetum purpureum cv. king grass a tres edades de cosecha en caprinos Costa Rica; 2010.
28. Razz R, Clavero T, Vergara J. Cinetica de degradacion in situ de Pennisetum purpureum y Pennisetum polyanthemum. *Revista Cientifica*. 2004.
29. Rosero R, Posada S. Modelacion de la cinetica de degradacion de alimentos para rumiantes. *Journal of science and veterinary medicine*. 2009.
30. Grand R, Mertens D. impact of in vitro fermentation techniques upon kinetics of fiber digestion; 1992.
31. Noguera R, Posada S. modelacion de la cinetica de degradacion de alimentos para rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2007.
32. Lopez S. In vitro and in situ techniques for estimating digestibility London; 2005.
33. Correa H. Estimacion de la degradabilidad efectiva en el rumen mediante metodos numericos. *Revista faculta Nacional de Agronomia*. 2009.
34. Romero F. Utilizacion de la tecnica de digestion in situ para la caracterizacion de forraje. *Nutricion de rumiantes*. 1990.
35. Church D, Pond W. Fundamentos de nutricion y alimentacion de animales Mexico: LIMUSA; 1990.
36. Ørskov ER, Hovell , Mould F. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Health and Production*. 1980; 5: p. 195-213.
37. Nocek JE. In situ and other methods to estimate Ruminant Protein and Energy Digestibility. *Journal of Dairy Science*. 1988; 71: p. 2051-69.
38. Mertens DR. Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In Jung HG, Buxton DR, Hatfield RD, Ralph. Forage cell wall structure and digestibility.: American Society Agronomy; 1993. p. 535-70.
39. Zanton GI, Heinrichs AJ. Evaluation of modeling procedure for fitting in situ feed degradation profiles. *Journal of Animal Science*. 2009; 87: p. 2080-8.

40. Winterholler SJ, Lalman DL, Dye TK, McMurphy CP, Richards CJ. In situ ruminal degradation characteristics of by-product feedstuffs for beef cattle consuming lowquality forage. *Journal of Animal Science*. 2009; 87: p. 2996-3002.
41. Noziere , Michalet Doreau B. In Sacco methods. In D’Mello JP. *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. Oxon: Centre for Agriculture and Bioscience International; 2000. p. 233-53.
42. Madsen J, Stensig , Weisburger MR, Hvelplund. Estimation of the physical fill of feedstuffs in the rumen by the in sacco degradation characteristics. *Livestock Production Science*. 1994; 39: p. 43-47.
43. Meyer JH, Mackie RI. Microbiological evaluation of the intraruminal in sacculus digestion technique. *Applied and Environmental Microbiology*. 1986; 51: p. 622-9.
44. Noziere P, Michalet Doreau. Validation of in sacco method: influence of sampling site, nylon bag or rumen contents, on fibrolytic activity of solid-associated microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*. 1996; 57: p. 203-10.
45. Michalet Doreau. New methods for estimating forage feed values: in sacco. In INRA , editor. *XVth International Grassland Congress*. Versailles; 1990. p. 1850-1852.
46. Raymond WF, Harris CE, Harker VG. Studies on the digestibility of herbage. I. Technique of measurement of digestibility and some observations of factor affecting the accuracy of a digestibility data. *Journal of the British Grassland Society*. 1953; 8: p. 301-14.
47. Maynard LA. *Animal nutrition*. 3rd. ed. New York.
48. Galina , Delgado Pertiñez , Ortíz Rubio , Pineda LJ, Puga DC. Cinética ruminal y crecimiento de cabritos suplementados con un probiótico de bacterias ácido-lácticas. *Pastos y Forrajes*. 2009; 32: p. 1-12.
49. Barnicoate CR. Estimation of apparent digestibility coefficients by means of an inert “reference-substance”. *New Zealand Science and Technology*. 1945; 2: p. 202-12.
50. Tilley JMA, Terry RA. A two stage technique for the in vitro of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*. 1963; 18: p. 104-11.
51. Menke KH, Raab , Salewski A, Steingas H, Fritz , Schneider W. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science*. 1979; 93: p. 217-22.

52. Weiss WP. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. In Fahey GCJ, Collins , Mertens DR, Moser LE. Forage Quality, Evaluation and Utilization.: merican Society of Agronomy; 1994. p. 644-81.
53. Firkins JL, Allen MS, Oldick BS, St-Pierre NR. Modeling ruminal digestibility of carbohydrates and microbial protein flow to the duodenum. Journal of Dairy Science. 1998; 81: p. 3350-69.
54. Mauricio RM, Mould FL, Dhanoa MS, Owen E, Channa KS, Theodorou MK. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal Feed Science and Technology. 1999; 79: p. 321-30.
55. Beuvink JM, Spoelstra SF, Hogendorp J. An automated method for measuring time-course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid. Netherlands Journal of Agricultural Science. 1992; 40: p. 401-7.
56. Doane PH, Schofield P, Pell AN. ndf disappearance Gas and VFA production during In vitro fermentation of six forages. Journal of Animal Science. 1997; 75: p. 3342-52.
57. Williams BA. Cumulative gas-production techniques or forage evaluation. In Givens DI, Owen E, Omed HM, Axford RFE.. Wallingford (uk) cab International: Forage Evaluation in Ruminant Nutrition.; 2000. p. 475.
58. Pell AN, Schofield P. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. Journal of Dairy Science. ; 76: p. 1063-73.
59. Grant RJ, Mertens DR. Development of buffer systems for pH control and evaluation of pH effects on fiber digestion In vitro. Journal of Dairy Science. 1992; 75: p. 1581-87.
60. Schofiled P. Gas production methods. In Gas production methods. Wallingford (uk). cab International: Farm Animal Metabolism and Nutrition.; 2000. p. 450.
61. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, Mcallan AB, France JA. Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 1994; 48: p. 185-97.
62. Goering H, Van Soest. P. Forage fiber analysis Agriculture ARSSDo, editor. Washington D. C.; 1970.
63. Valencia D, Giraldo L. Cinética de la degradación ruminal in vitro de forrajes suplementados con glicerina cruda proveniente de la obtención de biodiesel del aceite de palma africana. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 2009; 22: p. 3.

64. Vargas-Bayona J, Mejía-Porras G, Bedoya-Mashuth J, Gómez-Patiño JF. Estimación de la técnica in vitro de gases frente a otras técnicas de digestibilidad. *Spei Domus*. 2013; 9: p. 59-70.
65. Czerkawzky JW, Breckenridge. Design of a long-term simulation technique (Rusitec). *British Journal of Nutrition*. 1977; 38: p. 84-371.
66. Pashaei S, Razmazar , Mirshekar R. Gas Production: A Proposed in vitro method to Estimate the Extent of Digestion of a Feedstuff in the Rumen. *The Journal of Biological Sciences*. 2010; 10: p. 80-527.
67. Pell AN, Doane PH, Schofield P. In vitro digestibility and gas production. In. *Lavras, mg: Simpósio sobre Tópicos Especiais em Zootecnia; 1997. p. 109-32.*
68. Nsahlai IV, Umunna NN, Negassa D. The effect of multi-purpose tree digesta on in vitro gas production from napier grass or neutral-detergent fibre. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1995; 69: p. 519-28.
69. Opatpatanakit , Kellaway RC, Lean IJ, Annison G, Kirby A. Microbial fermentation of cereal grains in vitro. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1994; 45: p. 1247-63.
70. Getachew G, Blümel M, Makkar HP, Becker K. In vitro measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 1998; 72: p. 261-81.
71. Ørskov ER, Reid GW, Kay. Prediction of intake by cattle from degradation characteristics of roughages. *Animal*. 1988; 46: p. 29-34.
72. Liu Jian X, Susenbeth A, Sudekum KH. In vitro production measurements to evaluate interactions between untreated and chemically treated rice straws, grass hay, and mulberry leaves. *Journal of Animal Science*. 2002; 80: p. 517-24.
73. Jones RJ, Barnes. In vitro digestibility assessment of tropical shrub legumes using rumen fluid or fecal fluid as the inoculum source. *Tropical Grasslands*. 1996; 30: p. 374-77.
74. Davies ZS, Mason , Brooks AE, Griffith GW, Merry RJ, Theodoru MK. An Automated System for Measuring Gas Production from Forage Inoculated with Rumen Fluid and its use in Determining the Effect of Enzymes on Grass Silage. *Animal Feed Science and Technology - Journal*. 2000; 83: p. 205-21.
75. Mauricio RM, Owen , Mould FL, Givens I, Theodorou MK, France J, et al. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an in vitro gas production technique for evaluating forages. *Animal Feed Science and Technology*. 2001; 89: p. 33-48.

76. Arnjed H, Joung G, Donker J. Effect of alkall hydrogen peroxide treatment on cell wall composition and digestion kinetics of sugar cane residues and wheat straw. *Journal of Animal Science*. 1992.
77. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). INIAP. [Online].; 1967 [cited 2017 Agosto 26. Available from: www.iniap.com.ec.
78. AOAC. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 1990.
79. Márquez F, Sánchez J, Urbano D, Dávila C. Evaluación de la frecuencia de corte y tipos de fertilizacion sobre tres genotipos de pastos elefante (*Pennisetum purpureum*). Rendimiento y contenido de proteína. *zootecnia Tropical*. 2007; 25.
80. Jaurena G, Wawrzkievicz M. Guía de procedimientos analíticos año 2009. Buenos Aires - Argentina : Facultad de Agronomía - Universidad de Buenos Aires , Centro de Investigación y Servicios en Nutrición Animal (CISNA), Departamento de Producción Animal.
81. Kariuki , Gachuiiri , Gitau , Tamminga , Bruchem Jv, Muia , et al. Effect of feeding napier grass, lucerne and sweet potato vines as sole diets to dairy heifers on nutrient intake, weight gain and rumen degradation. *Livestock Production Science*. 1998; 55: p. 13-20.
82. Juma , Abdulrazak , Muinga , Ambula. Evaluation of Clitoria, Gliricidia and Mucuna as nitrogen supplements to Napier grass basal diet in relation to the performance of lactating Jersey cows. *Livestock Science*. 2006; 103: p. 23–29.
83. Faria Vidal AK, da Costa , Figueiredo R, Almeida J, Nunes de Lima , Souza , et al. Production potential and chemical composition of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) at different ages for energy purposes. *African Journal of Biotechnology*. 2017; 16: p. 1428-1433.
84. González I, Betancourt M, Fuenmayor A, Lugo. Producción y composición química de forrajes de dos especies de pasto Elefante (*Pennisetum* sp.) en el Noroccidente de Venezuela. *Zootecnia Tropical*. 2011; 29: p. 103-112.
85. Ansah , Osafo , Hansen HH. Herbage yield and chemical composition of four varieties of Napier (*Pennisetum purpureum*) grass harvested at three different days after planting. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 2010; 1(5): p. 923-929.
86. Arshad , Anwar , Saeed. Effect of nitrogen fertilization and harvesting intervals on the yield and forage quality of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) under mesic climate of pothowar plateau. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*. 2010; 47(3): p. 231-234.

87. Escarela , Pietroski , Prado , Campos C, Caione G. Effect of nitrogen fertilization on productivity and quality of Mombasa forage (*Megathyrsus maximum* cv. Mombasa). *Acta Agronómica*. 2017; 66: p. 42-48.
88. Hancock DW, Harris GH, Franks RW, Morgan SP, Green. Soil and Fertilizer Management Considerations for Forage Systems in Georgia. [Online].; 2014 [cited 2017 diciembre 21. Available from:
https://secure.caes.uga.edu/extension/publications/files/pdf/B%201346_4.PDF.
89. Campos Pereira G, Rodrigues Lima , Silva , Galati , Tilemahos Zervoudakis , Gonçalves de Abreu , et al. Produção e composição bromatológica do capim Massai submetido a doses de nitrogênio e alturas de corte. *Ciências Agrárias*. 2016; 37: p. 2487-2498.
90. Martha Júnior , Corsi , Barioni , Vilela. Intensidade de desfolha e produção de forragem do capim-tanzânia irrigado na primavera e no verão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 2004; 39: p. 927-936.
91. Dupas , Buzetti , Sarto AL, Tangerino Hernandez , Bergamaschine. Dry matter yield and nutritional value of Marandu grass under nitrogen fertilization and irrigation in cerrado in São Paulo. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2010; 39: p. 2598-2603.
92. Zetina-Córdoba , Ortega-Cerrilla , Ortega-Jiménez , Herrera-Haro JG, Sánchez-Torres-Esqueda , Reta-Mendiola , et al. Effect of cutting interval of Taiwan grass (*Pennisetum purpureum*) and partial substitution with duckweed (*Lemna* sp. and *Spirodela* sp.) on intake, digestibility and ruminal fermentation of Pelibuey lambs. *Livestock Science*. 2013; 157: p. 471-477.
93. Kozloski , Perottoni , Sanchez. Influence of regrowth age on the nutritive value of dwarf elephant grass hay (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Mott) consumed by lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 2005; 119: p. 1-11.
94. Kozloski GV, Perottoni , Ciocca , Rocha , Raiser , Sanchez. Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. *Animal Feed Science and Technology*. 2003; 104: p. 29-40.
95. Valenciaga D, Chongo , La O , Oramas , Cairo , Pompa. Degradabilidad ruminal in situ de la materia seca y los constituyentes de la pared celular de *Pennisetum purpureum* vc. CUBA CT-115 con diferentes edades de rebrote en búfalos de río (*Bubalus bubalis*). *Livestock Research for Rural Development*. 2010; 22: p. 1-7.

96. Abdi H, Tessema Z, Mengistu , Sisay F. Effect of Nitrogen Fertilizer Application on Nutritive Value of *Cenchrus ciliaris* and *Panicum Maximum* Grown under Irrigation at Gode, Somali Region. *Journal of Nutrition and Food Sciences*. 2015; 11: p. 1-6.
97. Astigarraga , Peyraud JL, Delaby. Effect of nitrogen fertiliser rate and protein supplementation on the herbage intake and the nitrogen balance of grazing dairy cows. *Animal Research*. 2002; 51: p. 279–293.
98. AFZAL , AHMAD , AHMAD. Effect Of Nitrogen On Growth And Yield Of Sorghum Forage (*Sorghum Bicolor* (L.) Moench Cv.) Under Three Cuttings System. *Cercetări Agronomice în Moldova*. 2012; 45: p. 57-64.
99. Mohammad N, Butt NM, Qamar IA. Effect of nitrogen fertilization and harvesting intervals on the yield and nutritional value of napier grass. *Pakistan Journal of Agricultural Research*. 1988; 9: p. 478-482.
100. Kabi F, Bareeba FB, Havrevoll Ø, Mpofu IDT. Evaluation of protein degradation characteristics and metabolisable protein of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) and locally available protein supplements. *Livestock Production Science*. 2005; 95: p. 143-153.
101. Valenciaga D, Chongo B, La O O. Caracterización del clon *Pennisetum* CUBA CT-115. Composición química y degradabilidad ruminal de la materia seca. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 2001; 35: p. 349-354.
102. Manaye T, Tolera A, Zewdu T. Feed intake, digestibility and body weight gain of sheep fed Napier grass mixed with different levels of *Sesbania sesban*. *Livestock Science*. 2009; 122: p. 24-29.
103. Singh S, Anele UY, Edmunds B, Südekum KH. In vitro ruminal dry matter degradability, microbial efficiency, short chain fatty acids, carbohydrate and protein fractionation of tropicalgrass-multipurpose trees species diets. *Livestock Science*. 2014; 160: p. 45-51.
104. Chacón P, Vargas C. Digestibilidad y calidad del *Pennisetum purpureum* cv. King Grass a tres edades de rebrote. *Agronomía mesoamericana*. 2009; 20: p. 399-408.
105. Márquez , Sánchez , Urbano , Dávila. Evaluación de la frecuencia de corte y tipos de fertilización sobre tres genotipos de pasto elefante (*Pennisetum purpureum*). 1. Rendimiento y contenido de proteína. *Zootecnia Tropical*. 2007; 25: p. 253-259.
106. Gierus M, Pötsch , Weichselbaum F. Influence of nitrogen fertilization on the crude protein fractions of grassland forage. *Grassland Science in Europe*. 2016; 21: p. 245-247.

107. Fernandes JC, Buzetti , Dupas , Carvalho Minhoto M, Filho T, Andreotti. Sources and rates of nitrogen fertilizer used in Mombasa guineagrass in the Brazilian Cerrado region. *African Journal of Agricultural*. 2015; 10: p. 1031-1042.
108. Ferreira Magalhães , Vieira Pires AJ, Pinto de Carvalho GG, Ferreira da Silva F, Silva Sousa R, Mattos Veloso C. Influência do nitrogênio e do fósforo na produção do capim-braquiária. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2007; 36: p. 1240-1246.
109. Van Soest P. *Nutritional ecology of the ruminant*. Segunda ed. Ithaca: Comstock Publishing Associates; 1994.
110. Quadros D, Rodriguez L. Valor nutritivo dos capins Tanzânia e Mombaça adubados com nitrogênio e sob lotação rotacionada. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 2006; 28: p. 385-392.
111. Vitor , Miranda da Fonseca , Cóser AC, Martins CE, do Nascimento Júnior D, Ribeiro Júnior JI. Produção de matéria seca e valor nutritivo de pastagem de capim-elefante sob irrigação e adubação nitrogenada. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2009; 38: p. 435-442.
112. Costa KAP, Oliveira IP, Faquin V, Severiano EC, Guimarães KC, Moreira JFM, et al. Adubação nitrogenada e potássica na produção de massa seca e composição bromatológica do capim-xaraés. *Global Science and Technology*. 2011; 4: p. 51-60.
113. Sabin Benett CG, Buzetti , Santiago Silva , Bergamaschine AF, Alarcon Fabricio. Produtividade e composição bromatológica do capim-marandu a fontes e doses de nitrogênio. *Ciência e agrotecnologia*. 2008; 32: p. 1629-1636.
114. Cecato, U, Pereira, LAF, Jobim CC. Influência das adubações nitrogenadas e fosfatadas sobre a composição químico-bromatológica do capim-Marandu (*Brachiaria brizantha*) (Hochst) Stapf cv Marandu). *Acta Scientiarum*. 2004; 26: p. 409-416.
115. Waramit N, Moore KJ, Fales SL. Forage quality of native warm-season grasses in response to nitrogen fertilization and harvest date. *Animal Feed Science and Technology*. 2012; 174: p. 46– 59.
116. CáRdenas R amíRez LR, Pinto R uiz , Medina FJ, Guevara , Gómez H, Hernández A, et al. Producción y calidad del pasto maralfalfa (*Pennisetum* sp) durante la época seca. *Quehacer Científico en Chiapas*. 2012; 1: p. 38-46.
117. Ørskov ER, Ryle M. Towards future feed evaluation systems. In Ørskov ER, Ryle M, editors. *Energy nutrition of ruminants*. London and New York: Elsevier applied science; 1990. p. 105-144.

118. Correa, HJ, Cerón JM, Arroyave , Henao Y, López A. Pasto maralfalfa: mitos y realidades. In IV seminario internacional Competitividad en carne y leche; 2004; Medellín: Cooperativa Colanta. p. 231-274.
119. Gómez LI, Gómez PJ. Evaluación del valor nutritivo del Pennisetum purpureum CT-115 como recursoforrajero en Villa Corzo, Chiapas Chiapas: Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad Autónoma de Chiapas; 2007.
120. Barrera Álvarez AE, Avellaneda Cevallos JH, Tapia Moreno EO, Peña Galeas MM, Molina Hidrovo CA, Casanova Ferrin LM. Composición química y degradación de cuatro especies de Pennisetum sp. Ciencia y Tecnología. 2015; 8: p. 13-27.
121. Dominguez M, Valenciaga D. Degradabilidad Ruminal in-situ de Pennistum Purpureum vc. Cuba CT_!% con diferentes edades de rebrote en bufalos de rio (Bubalus bubalis). Instituto de Ciencia Animal. 2004;; p. 1-5.
122. Ibrahim M, Franco M, Pezo D, Carnero A, Araya J. Degradabilidad ruminal in-situ y solubilidadde la proteina de rebrote de Cratylia argentea de diferentes edades. FAO. 2010.
123. Juma HK, Abdulrazak , Muinga RW, Ambula MK. Evaluation of Clitoria, Gliricidia and Mucuna as nitrogen supplements to Napier grass basal diet in relation to the performance of lactating Jersey cows. Livestock Science. 2006; 103: p. 23–29.
124. Kariuki JN, Gachuri CK, Gitau , Tamminga , van Bruchem. Effect of feeding napier grass, lucerne and sweet potato vines as sole diets to dairy heifers on nutrient intake, weight gain and rumen degradation. Livestock Production Science. 1998; 55: p. 13–20.
125. Kariuki JN, Gitau GK, Tamminga , Muia. Effect of supplementing napier grass with desmodium and lucerne on DM, CP and NDF intake and weight gains in dairy heifers. Livestock Production Science. 1999; 60: p. 81–88.
126. Tibebe M, Adugna T, Tessema Z. Feed intake, digestibility and body weight gain of sheep fed Napier grass mixed with different levels of Sesbania sesban. Livestock Science. 2009; 122: p. 24–29.
127. Rodrigues SIFC, Dijkstra , Assis , France , Tamminga. Evaluation of supplements to enhance nutrient supply and milk production of cattle fed diets based on elephant grass (Pennisetum purpureum) using a mathematical model. Livestock Production Science. 2002; 77: p. 273–286.

128. Rodríguez R, Fondevila M, Castrillo C. In vitro ruminal fermentation of Pennisetum purpureum CT-115 supplemented with four tropical browse legume species. *Animal Feed Science and Technology*. 2009; 151: p. 65–74.
129. Yocota H, Okajima T, Ohshima M. Nutritive value of Napier Grass (*Pennisetum Purpureum* Schum.) silage ensiled with molasses by goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 1992; 5: p. 33-37.
130. Faria Vidal AK, da Costa Barbé , Figueiredo Daher , Almeida Filho JE, Nunes de Lima RS, Souza Freitas , et al. Production potential and chemical composition of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) at different ages for energy purposes. *African Journal of Biotechnology*. 2017; 16: p. 1428-1433.
131. LENG RA. FACTORS AFFECTING THE UTILIZATION OF POOR-QUALITY FORAGES BY RUMINANTS PARTICULARLY UNDER TROPICAL CONDITIONS. *Nutrition Research Reviews*. 1990; 3: p. 277-303.
132. Genzebu , Tesfay G. The role of bacteria in nitrogen metabolism in the rumen with emphasis of cattle. *Research Journal of Agriculture and Environmental Management*. 2015; 4: p. 282-290.
133. Martha Jr GB, Corsi M, Trivelin PCO, Alves MC. Nitrogen recovery and loss in a fertilized elephant grass pasture. *Grass and Forage Science*. 2004; 59: p. 80-90.
134. Kertz AF. REVIEW : Urea Feeding to Dairy Cattle: A Historical Perspective and Review. *The Professional Animal Scientist*. 2010; 26: p. 257–272.
135. Fernandes JC, Buzetti , Dupas , Minhoto MC, Filho , Andreotti. Sources and rates of nitrogen fertilizer used in Mombasa guineagrass in the Brazilian Cerrado region. *African Journal of Agricultural*. 10; 2015: p. 1031-1042.
136. Gomez Gurrola , Loya Olguien JL, Sanginés García , Zubirán , Gómez Gurrola JA. Composición química y producción del pasto *Pennisetum purpureum* en la época de lluvia y diferentes estados de madurez. *Educatconciencia*. 2015; 6: p. 68-74.
137. Ellis WC, Matis JH, Hill TM, Murphy MR. Methodology for estimation digestion and passage kinetics of forages. In Fahey GCJ, Collins M, Mertens DR, Moser LE. *Forage Quality, Evaluation and Utilization.*: American Society of Agronomy; 1994. p. 682-756.
138. Menke KH. Steingas H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 1988; 28: p. 7-55.

139. El-Meadaway A, Mir Z, Zaman P, Yanke LJ. Relative efficacy of inocula from rumen liquor and fecal solution for determining In vitro digestibility and gas production. *Journal of Animal Science*. 1998; 78: p. 673-9.
140. Omed HM, Lovett DK, Axford RFE. Faeces as Source of Microbial Enzymes for Estimating Digestibility. In Givens DI, Owen , Axford RFE, Omed HM.. Wallingford (uk): cabi Publishing: *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*; 2000. p. 135-54.

CAPITULO VII

ANEXOS



**ANEXO 1: PESO DE MUESTRAS DE PASTO KING GRASS
COSECHADO A LOS 60 DIAS**



ANEXO 2: PESO DE BOLSITAS MAS MUESTRA



ANEXO 3: DISTRIBUCION DE TRATAMIENTOS



**ANEXO 4: TRATAMIENTOS LISTOS PARA SER
INGRESADOS**



**ANEXO 5: INGRESO DE LOS
TRATAMMIENTOS AL RUMEN**



**ANEXO 6: TRATAMIENTOS SIENDO
RESTIRADOS DEL RUMEN**



ANEXO 7: LAVADO DE BOLSITAS



ANEXO 8: PESADO DE MUESTRAS



ANEXO 9: MUESTRAS PREVIAMENTE PESADAS EN CRISOLES PARA ANALISIS DE MS, MO, MI