

# UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERIAS BIOLÓGICAS Y QUIMICAS

PROGRAMA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**DETERMINACIÓN DE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL IN SITU DEL  
PASTO MARALFALFA (*pennisetum sp.*) EN DOS EDADES DE CORTE EN  
VACAS LECHERAS. MAJES-2013**

**DETERMINATION OF IN SITU DEGRADATION OF GRASS RUMINAL  
maralfalfa (*pennisetum sp.*) IN TWO AGES OF DAIRY COWS IN COURT.  
MAJES-2013**

Tesis presentada por el Bachiller:  
**Leony Horacio Romero Contreras**

Para optar el Título Profesional de  
**Médico Veterinario y Zootecnista**

**Arequipa – Perú**

**2014**

## DEDICATORIA

A mi papá **Manuel Romero**, que de Dios goza que él siempre me iluminó desde el cielo protegiéndome y guiándome por el buen sendero de la vida, ya que gracias a sus inculcaciones de valores y respeto a los animales hoy he logrado mi objetivo.

A mi mamá **Alicia Contreras** y doy gracias a Dios por tener una hermosa mamá que siempre dio lo mejor por mí y con su perseverancia y sus palabras dulces y tiernas que siempre confié, gracias te doy mamá porque eres la más bella y hermosa que tengo en la vida, hoy gracias a ti mamá soy una persona encargada de velar por los indefensos animalitos.

A mi hermana **Raquel**, que siempre estaba ahí apoyándome incondicionalmente y contribuyendo con lo que disponía para mi formación profesional y te doy gracias de corazón hermanita.

A mi hermano **Ronald** por apoyar en la Chacra mi mamá cuando yo estudiaba, a mi hermana **Chapí Josefina**, aunque a la distancia siempre estuvo pendiente de mí y mi hermana **Hilda** la encargada de velar y apoyar a mi mamá en sus quehaceres.

## AGRADECIMIENTO

Le quedo muy agradecido a mí asesor, **Dr. Jorge Zegarra Paredes** por su apoyo incondicional que me brindo para ejecutar la investigación llevado y ejecutado y durante todo ese tiempo siempre estaba a la expectativa y orientándome para que todo el trabajo sea un éxito y así mismo por sus sabias sugerencias y consejos que siempre me dio para ser una persona de éxito y la vez por darme esa confianza y seguridad y por la amistad que me brindo sin restricción alguna.

A mis jurados **Dr. Guillermo Vásquez Rodríguez** por haber contribuido en la corrección de mi borrador de tesis y por su orientación y apoyo que siempre me brindo le estoy muy agradecido, **Dr. Gary Villanueva Gandarillas** le estoy agradecido por haberme acogido en el internado para seguir estudiando y hoy mis sueños es una realidad de ser un Médico Veterinario y Zootecnista y el **Dr. Alexander Obando Sánchez**, que siempre estaba dirigiendo y apoyando revisando de manera detallada el trabajo de investigación que se le presentó y siempre me brindó su apoyo moral y dando solución a cualquier dificultad que se dio.

Del mismo modo quedo agradecido al **Programa profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia** por haberme facilitado las dos vacas fistulada como especímenes para llevar adelante mi investigación y sus instalaciones para ejecutar dicha investigación como sus corrales para las vacas y también el **Laboratorio de Nutrición Animal** que se me dio acceso a utilizar sus equipos

como también sus instrumentos de dicho laboratorio para realizar las evaluaciones como también el análisis final del producto que se utilizó.

Quedando agradecido a la Laboratorista encargada Sta. **Sharon Gonzales Gutiérrez** de quien estuvo a su cargo de llevar adelante los análisis finales para obtener el resultado final del producto utilizado del pasto maralfalfa.

Quedo agradecido a todos los Doctores del Programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia que contribuyeron en mi formación personal y transmitiendo sus conocimientos y sus experiencias, para ser un profesional de vanguardia y competitivo y de éxito.

Le quedo agradecido a mi **Universidad Católica de Santa María** por haberme acogido en sus salones para darme una formación Profesional de vanguardia y de competitividad en donde me inculcaron valores y respeto así al prójimo siendo hoy y siempre mi Alma Mater.

GRACIAS

LEONY HORACIO ROMERO CONTRERAS

## ÍNDICE

	<b>Págs.</b>
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
RESUMEN .....	X
ABSTRACT .....	XII
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Enunciado del problema.....	1
1.2. Descripción del problema.....	1
1.3. Efecto en el desarrollo.....	2
1.3.1 Efecto local y regional.....	2
1.4. Justificación.....	2
1.4.1. Aspecto general.....	2
1.4.2. Aspecto tecnológico.....	4
1.4.3. Aspecto social.....	4
1.4.4. Aspecto económico.....	5
1.4.5. Importancia del trabajo.....	5
1.5. Objetivos .....	6
1.5.1. Objetivo General .....	6
1.5.2. Objetivo Específicos .....	6
1.6. Hipótesis .....	7
<b>II. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....</b>	<b>8</b>
2.1. Análisis bibliográfico.....	8
2.1.1 La pared celular vegetal.....	8

A)	La naturaleza de la pared celular.....	9
a.1	Celulosa.....	10
a.2	Hemicelulosas.....	10
a.3	Sustancias pécticas.....	11
a.4	Proteínas.....	11
a.5	Compuestos fenólicos.....	12
a.6	Lignina.....	13
2.1.2	Digestión microbiana ruminal de los carbohidratos de los forrajes.....	16
a)	Digestión de carbohidratos estructurales de las paredes celulares.....	19
b)	Mecanismos de colonización y adhesión de los microorganismos ruminales a la pared celular.....	19
c)	La acción enzimática en los polisacáridos estructurales.....	21
d)	Hidrólisis de la celulosa.....	23
e)	Hidrólisis de las hemicelulosas.....	24
2.1.3	Papel de los microorganismos ruminales en el proceso de digestión de los carbohidratos estructurales de las paredes celulares.....	25
a)	Papel de las bacterias.....	25
b)	Papel de los hongos.....	27
c)	Papel de los protozoos.....	28
2.1.4	Maralfalfa ( <i>Pennisetum sp.</i> ) Como forraje.....	31
a)	Pasto Maralfalfa ( <i>Pennisetum sp.</i> ).....	32

b)	Origen .....	32
c)	Características taxonómicas .....	34
d)	Órganos Vegetativos. ....	37
e)	Órganos Reproductivos .....	38
2.1.5 Algunos antecedentes y el estado actual de diferentes técnicas		
	de evaluación de los alimentos para rumiantes.....	41
a)	Técnica <i>in situ</i> para determinar la degradabilidad ruminal de los alimentos .....	41
b)	Técnica <i>in situ</i> para estudiar la degradabilidad ruminal.....	43
c)	Determinación de nitrógeno en proteínas por el método de Kjeldahl .....	44
d)	Método Kjeldahl para determinación de Proteína Cruda.....	45
e)	Análisis Químicos de importancia en la alimentación de vacunos lecheros .....	46
e.1)	Materia Seca.....	46
e.2)	Proteína .....	48
2.2.	Antecedentes de investigación.....	48
2.2.1	Análisis de Tesis .....	48
2.2.2	Análisis de Trabajos de Investigación.....	51
III.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	57
3.1.	Materiales.....	57
3.1.1	Localización del trabajo .....	57
a)	Localización espacial .....	57
b)	Localización temporal.....	57

3.1.2 Material biológico .....	57
3.1.3 Material de laboratorio .....	58
3.1.4 Material de campo .....	58
3.1.5 Equipos.....	59
3.1.6 Materiales digitales .....	59
3.1.7 Otros materiales.....	59
3.2. Métodos .....	60
3.2.1 Muestreo .....	60
a) Universo .....	60
b) Tamaño de muestra .....	60
c) Procedimiento de muestreo.....	60
3.2.2 Formación de unidades experimentales de estudio.....	61
3.2.3 Métodos de evaluación .....	61
a) Metodología de experimentación .....	61
b) Recolección de información .....	66
3.2.4 Variables respuesta .....	66
a) Variables dependientes.....	66
b) Variables independientes .....	66
3.3 Evaluación Estadística .....	67
3.3.1 Diseño experimental .....	67
3.3.2 Unidades experimentales.....	67
3.3.3 Tratamientos .....	67
3.3.4 Nivel de significancia .....	68

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	69
1. COMPOSICIÓN QUÍMICA NUTRICIONAL DE DOS EDADES DE CORTE DE PASTO MARALFALFA.....	69
2. DEGRADABILIDAD <i>IN SITU</i> DE DOS EDADES DE CORTE DE MARALFALFA ( <i>PENNISETUM SP.</i> ) A LOS 120 Y 100 DIAS.....	70
A. Materia Seca (MS) .....	70
B. Proteína Cruda (PC). .....	73
C. Parámetros de Degradabilidad Ruminal. ....	75
1. Materia Seca (MS) .....	76
2. Proteína Cruda (PC).....	79
V. CONCLUSIONES .....	82
VI. RECOMENDACIONES .....	84
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	85
VIII. ANEXOS.....	109

## RESUMEN

El estudio fue realizado en el Fundo de la Universidad Católica de Santa María ubicado en la Banda – Huasacache, Distrito de Hunter, Departamento de Arequipa, y tuvo como objetivo evaluar la degradabilidad del pasto Maralfalfa en dos edades de corte, a 100 (MAF100) y 120 (MAF120) días. Para el estudio se utilizaron 2 vacas fistuladas las cuales fueron sometidas a los dos tratamientos (estados de corte) con 4 repeticiones por tratamiento. Las muestras se colocaron en bolsistas secadas a peso constante en una estufa de aire forzado, se utilizaron 02 bolsitas por cada animal para los diferentes tiempos de incubación, dando un total de 04 repeticiones por muestra y tiempo de incubación que fueron a las 0, 2, 4, 8, 16, 32, 48 y 72 horas. El promedio de degradabilidad de la MS de 120 días y 100 días de corte para el tiempo 0 fue de 11,77 y 14,55 %. Hasta las 72hrs de incubación se llegó a alcanzar una degradabilidad de 68.30 y 72.82 % para 120 y 100 días de corte respectivamente. Se encontraron diferencias altamente significativas entre los tiempos de incubación ( $p < 0.01$ ). Se encontraron diferencias entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y no existió interacción entre los tiempos de incubación y los tratamientos con un valor de ( $p > 0.05$ ). El promedio de degradabilidad de la PC de 120 y 100 días de corte para el tiempo 0 fue de 15.91 y 36.00%. Se observó que en las 72hrs de incubación se llegó a alcanzar una degradabilidad de la PC de 61.03 y 81.73 para 120 y 100 días de corte respectivamente. Se determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tiempos de incubación ( $p < 0.01$ ). Igualmente se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.01$ ), para todos los tiempos de

incubación. No se encontró interacción entre los tiempos de incubación y los tratamientos con un valor de ( $p>0.05$ ). En la evaluación de la cinética de degradación ruminal de la MS a 120 y 100 días se encontró una fracción soluble de 8.44% y 12.59% respectivamente. Del mismo modo se encontró en promedio un 81.49% y 78.09% respectivamente de fracción lentamente degradable en el rúmen. De otro lado se estableció también una tasa promedio de degradación de la MS del alimento de 2.1 %/h y 2.3%/h respectivamente. Finalmente la degradabilidad efectiva (DEMS) alcanzó un porcentaje de 32.17% y 36.92% respectivamente. La fracción soluble (a) fue mayor ( $p<0.05$ ) a los 100 días con respecto a los 120 días, al igual que la DE. Los demás parámetros de degradación fueron iguales ( $p>0.05$ ) entre ambos estadios de corte no habiendo efecto del tratamiento. En la evaluación de la cinética de degradación ruminal de la PC a 120 y 100 días, se encontró en la fracción soluble de 15.58% y 35.06% respectivamente. Del mismo modo se encontró en promedio un 84.42% y 51.60% respectivamente de fracción lentamente degradable en el rúmen. De otro lado se estableció también una tasa promedio de degradación de la PC del alimento de 1,0 %/h y 6.0%/h respectivamente. Finalmente el porcentaje de degradabilidad efectiva (DE) alcanzó un porcentaje de 32.79% y 60.26% respectivamente. La fracción de PNDR fue de 67.21 y 40.64 % de la PC respectivamente. Se determinó además una fracción potencialmente degradable total de 100 y 58.95 % respectivamente, pudieron ser degradadas a nivel ruminal durante el periodo de incubación establecido en el estudio. Todos los parámetros de degradabilidad ruminal de la PC difirieron entre tratamientos ( $p<0.05$ ).

## ABSTRACT

The study was conducted at the Farm of the Catholic University of Santa María is located in the Band - Huasacache, District Hunter, Department of Arequipa, and aimed to evaluate the degradability of grass Maralfalfa two cutting ages, 100 (MAF100) and 120 (MAF120) days. For study 2 fistulated cattle which were subjected to the two treatments (cutting states) with 4 replicates per treatment were used. The dried samples were placed in stockbrokers to constant weight in a forced air oven 02 bags were used for each animal for the different incubation times, giving a total of 04 replicates per sample and incubation time were at 0, 2, 4, 8, 16, 32, 48 and 72 hours. The average DM degradability of 120 days and 100 days of court for time 0 was 11.77 and 14.55%. Until 72hrs incubation was reached achieve degradability of 68.30 and 72.82% for 120 and 100 days respectively court. Highly significant differences between incubation times ( $p < 0.01$ ) were found. Differences between treatments ( $p < 0.05$ ) and no interaction between incubation time and treatment with a value of ( $p > 0.05$ ). The average degradability of CP 120 and 100 court days for the weather 0 was 15.91 and 36.00%. It was noted that incubation of 72hrs achieve reached PC degradability 61.03 and 81.73 120 and 100 days for cutting respectively. It was determined that there are significant differences between incubation times ( $p < 0.01$ ). The same way highly significant differences between treatments ( $p < 0.01$ ) for all incubation times were found. No interaction was found between incubation times and treatment with a value of ( $p > 0.05$ ). In evaluating the kinetics of degradation ruminal DM at 120 and 100 days a soluble fraction of 8.44% and 12.59% found respectively. Similarly found on average 81.49% and

78.09% respectively of slowly degradable fraction in the rumen. On the other hand an average rate of DM degradation of food 2.1% / h and 2.3% / h respectively were also established. Finally the effective degradability (EDDM) reached a percentage of 32.17% and 36.92% respectively. The soluble fraction (a) was higher ( $p < 0.05$ ) at 100 days compared to 120 days, as the DE. The other degradation parameters were equal ( $p > 0.05$ ) between the two stages having cut no effect treatment. In evaluating the kinetics of ruminal degradation of CP 120 and 100 days, was found in the soluble fraction of 15.58% and 35.06% respectively. Similarly found on average 84.42% and 51.60% respectively of slowly degradable fraction in the rumen. On the other hand an average rate of degradation of the CP food 1.0% / h and 6.0%/h respectively were also established. Finally the percentage of effective degradability (ED) reached a percentage of 32.79% and 60.26% respectively. The RUP fraction was 67.21% and 40.64 pc respectively. He also established the total potentially degradable fraction of 100 and 58.95% respectively, could be degraded during ruminal incubation period established in the study. All parameters of ruminal degradability of CP differed between treatments ( $p < 0.05$ ).

## I. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Enunciado del problema.

Determinación de la degradabilidad ruminal *in situ* del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) en dos edades de corte en vacas lecheras. Majes - 2013.

### 1.2. Descripción del problema.

El pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) es una gramínea de muy alto rendimiento de forraje y con niveles proteicos aceptables (16 a 20 %) (Correa, 2004) constituyéndose en una excelente alternativa para suplir épocas de deficiencia de forrajes en la alimentación de vacunos lecheros, sin embargo su uso sería restringido, fundamentalmente, a las categorías de menores requerimientos nutricionales, dado su bajo valor energético y alto contenido de fibra (Cáceres y Zegarra, 2012). Actualmente no se conoce, bajo condiciones locales, cual es la cinética de degradación ruminal de la proteína y de la materia seca de este forraje, dato importante para cuantificar su real aporte nutricional y formular adecuadamente raciones, en las que dicho forraje participe en una alta proporción de la materia seca total consumida.

### 1.3. Efecto en el desarrollo.

#### 1.3.1 Efecto local y regional.

Los programas de formulación de raciones para ganado lechero requieren de información cada vez más detallada en cuanto a la composición química y el porcentaje de degradación ruminal de los alimentos, y en el caso de los forrajes, de acuerdo a las diferentes edades de corte en que este es utilizado, con el objetivo preponderante de poder formular raciones más precisas que cubran los requerimientos de los animales y que su vez sean del menor costo posible, El conocimiento de los porcentajes de degradabilidad ruminal de la PC y la MS del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) permitirán evaluar su real utilización por parte del ganado vacuno lechero y servirán para poder formular adecuadamente las raciones destinadas a estos animales, con la consecuente mayor eficiencia y reducción de costos mejorando la ganadería lechera de esta parte del país.

### 1.4. Justificación

#### 1.4.1. Aspecto general

Los nuevos modelos para formulación y evaluación de raciones requieren de la determinación precisa de aspectos dinámicos de la degradación de alimentos en el rumen y han adoptado a la técnica *in situ* como instrumento para facilitar este tipo de mediciones (Rosero y Posada, 2006).

Si la información de la calidad no es genuina y se extrapolan datos de otras fuentes (bibliografía del extranjero, principalmente) cualquier intento de realizar un balance de nutrientes podría fallar (Gallardo, 2007). Para suministrar una dieta equilibrada de acuerdo a los requerimientos del ganado lechero es esencial conocer al detalle los alimentos, antes de ejecutar cualquier formulación o de adquirir algún suplemento alimenticio extra para la temporada (Gallardo, 2007).

Existe una serie de análisis que permiten determinar el valor nutricional y el potencial grado de deterioro de los alimentos, (Gallardo, 2007). Recientemente se ha dado más importancia a la necesidad de determinar, con mayor precisión, el aporte de proteína digerible destinada para rumiantes. En nuestra región y en el Perú es nula la información sobre la degradabilidad ruminal de la proteína cruda y la materia seca del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) por lo que es necesario determinar la cinética de degradación de dichas fracciones, lo cual nos permitirá el diseñar sistemas de alimentación que maximicen la eficiencia en la utilización de la proteína en la dieta del ganado vacuno lechero, cuando dicho pasto forme parte importante de la fracción forrajera de la misma.

#### 1.4.2. Aspecto tecnológico

Los modelos predictivos y software que estiman la disponibilidad de nutrientes en los recursos alimenticios para la formulación y preparación de raciones, para ganado lechero vacuno, cada día involucra procedimientos más difíciles y complejos por el continuo avance tecnológico y el afán de buscar la eficiencia. Estos métodos han demostrado la necesidad de contar con características precisas sobre la degradabilidad ruminal de la proteína en los diferentes recursos utilizados para la formulación de raciones, como parte indispensable en el proceso de evaluación nutricional de los alimentos (AFRC, 1992).

En la actualidad no existe información relacionada con la degradabilidad ruminal de la MS y PC del pasto Maralfalfa bajo condiciones locales, es por ello que con el uso la técnica *in situ* y metodologías de laboratorio apropiadas y modernas; se proporcionará un aporte tecnológico para el desarrollo de la ganadería, a la altura de otros países sudamericanos y del mundo

#### 1.4.3. Aspecto social

Los vacunos son animales con diversas funciones, las cuales dependen de la alimentación que estos reciben. Entre las más importantes se puede mencionar la producción de leche y carne.

La leche es un alimento básico en la población, del mismo modo, representa una de las principales actividades socioeconómicas de la Región, por lo tanto, el mejorar la rentabilidad de los productores, a través de una reducción en sus costos en el sistema de alimentación, incrementarían sus márgenes de ganancia y consecuentemente se estaría mejorando su situación socioeconómica.

#### **1.4.4. Aspecto económico**

Los desequilibrios de las dietas (cuali-cuantitativos) representan una de las principales causas de pérdida de productividad en los sistemas ganaderos (Gallardo, 2007).

El presente trabajo de investigación utilizará la técnica de degradabilidad ruminal *in situ*, con el objetivo de ajustar en forma permanente los valores MS y PC degradables a nivel ruminal y ponerlas a disposición de productores, profesionales y sector privado con el fin de optimizar los sistemas de alimentación y así abaratar costos, con el consecuente aumento de la rentabilidad de sus explotaciones ganaderas.

#### **1.4.5. Importancia del trabajo**

La técnica *in situ* ofrece la posibilidad de estudiar la degradabilidad ruminal de los alimentos a través de la utilización de bolsas de dacrón suspendidas 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 elegida debido a su gran aproximación a los resultados *in vivo* (Rosero y Posada, 2006); el método de suspensión *in situ* de las fuentes proteicas permite medir no solamente la degradación, sino también la tasa, mediante la cual la proteína y la materia seca desaparecen a nivel del rumen (Ørskov y McDonald, 1979).

## 1.5. Objetivos

### 1.5.1. Objetivo General

- Determinar la degradabilidad ruminal *in situ* del Pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) en dos edades de corte en vacas lecheras.

### 1.5.2. Objetivo Específicos

- Determinar la curva de degradabilidad ruminal de la materia seca del Pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) a los 100 y 120 días de rebrote.
- Determinar la curva de degradabilidad proteica ruminal del Pasto de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) a los 100 y 120 días de rebrote
- Estimar los parámetros de degradabilidad efectiva, tasa de degradación y fraccionamiento de rápida y lenta degradación.

## 1.6. Hipótesis

Dado que: la materia seca y la proteína cruda de los alimentos sufren un proceso de degradación microbiana a nivel ruminal, y que este es influenciado por la edad de corte en forrajes, es probable que; la metodología de degradabilidad ruminal *in situ* nos permita determinar la magnitud y diferencias de dicha degradación y estimar la curva de degradación en el tiempo del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) destinado vacunos lecheros de la Irrigación de Majes, Arequipa.



## II. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

### 2.1. Análisis bibliográfico.

#### 2.1.1 La pared celular vegetal.

La fotosíntesis en la biosfera produce aproximadamente 136 X10<sup>15</sup> g de materia seca de las plantas por año, lo que representa la biomasa más abundante de la tierra.

Todas estas plantas están compuestas por un conjunto heterogéneo de células, constituidas por un protoplasma y como característica distintiva la presencia de la pared celular.

Esta protege el contenido celular, proporciona la forma y rigidez de la estructura, además cumple un papel importante en procesos de absorción, transporte y secreción de sustancias, de degradación de macromoléculas y de protección contra el ataque de bacterias, hongos patogénicos, sustancias tóxicas, entre otras (Williams, 2003).

La pared celular es una matriz especializada de estructura compleja y heterogénea que se constituye durante la división celular, a partir de vesículas que provienen del Aparato de Golgi (Meuser et al. 1992) y se caracteriza por su complejidad y variabilidad química, histológica y estructural, en dependencia de la especie vegetal, la ruta fotosintética, la parte anatómica en cuestión y la fase de desarrollo o maduración que presente la planta (Ramírez et al, 2000). Se puede dividir en tres partes fundamentales. La primera o más externa es la lámina media o sustancia

intersticial, que es delgada, flexible, amorfa y ópticamente inactiva, se forma inmediatamente después de la división celular, antes que la célula complete su crecimiento (González, 2005). Sobre ella se deposita la pared primaria, delgada y semirrígida que se encuentra en células jóvenes y áreas de activo crecimiento. A continuación se depositan sucesivas láminas secundarias gruesas y rígidas, que componen la pared secundaria, que se forma cuando la célula detiene su crecimiento, elongación y alcanza su máximo volumen. Se encuentra en células asociadas al sostén y la conducción (Ohara et al. 1998).

#### **A) La naturaleza de la pared celular.**

Según Ramírez et al. (2002), la estructura y función de la pared celular vegetal está controlada por su naturaleza (organización y composición). La pared celular está compuesta principalmente por polisacáridos de composición y estructura variable, entre los que se destacan la celulosa y hemicelulosas, así como por lignina, ácidos fenólicos, proteínas, iones y agua.

A pesar de los grandes esfuerzos desarrollados para dilucidar las propiedades químicas y estructurales de los constituyentes de la pared celular y su interrelación funcional, aún son escasos los conocimientos de este complejo proceso. Solo se ha demostrado que la composición y organización de los componentes individuales de la pared controlan y determinan su estructura y función (Akin et al, 1990 y Vidart, 2003), por

lo que a continuación se examinarán las principales características de los componentes individuales más importantes de la pared celular.

### **a.1 Celulosa**

Es la molécula orgánica más abundante en la naturaleza y el principal componente de la pared celular de los vegetales, su síntesis ocurre en la membrana plasmática.

Es un polímero lineal no ramificado de peso molecular variable, con fórmula empírica  $(C_6H_{10}O_5)_n$  con valor mínimo de  $n= 200$ , constituido por unidades de D (+) anhidroglucopiranosas unidas por enlaces  $\beta$  1-4 glicosídicos (Northcote, 1999). Estas unidades rotan  $180^\circ$  unas sobre otras, lo que significa que la verdadera unidad repetitiva es el dímero celobiosa.

Takabe et al. (1999) examinaron, mediante análisis de difracción de rayos X, los aspectos estereoquímicos de la molécula de celulosa, la longitud de sus enlaces interatómicos y el ordenamiento de las cadenas moleculares, estos estudios permitieron establecer la conformación de microfibrillas de celulosa cada vez más fuertes con el aumento de la edad de la planta, para proveer la fuerza y rigidez requerida en sus paredes celulares.

### **a.2 Hemicelulosas**

Las hemicelulosas componen una gran fracción de las paredes celulares de las plantas. Son polisacáridos matrices que se enlazan junto a las

microfibrillas de celulosa y forman enlaces covalentes con la lignina (Chaucheyras y Fonty 2001). El complejo de Golgi y las vesículas del retículo endoplasmático rugoso están

### **a.3 Sustancias pécticas**

La pectina es otro componente importante de las paredes celulares primarias de las plantas y se encuentra en la lamela media (Northcote 1999). Es un polisacárido no fibrilar, cuyo componente mayoritario es el ácido D-galacturónico, unido por enlace  $\alpha$ 1-4, pero también contiene cantidades variables de azúcares neutros insertados en la cadena principal, principalmente arabinosa, galactosa y ramanosa (Carpita y McCann, 2000).

### **a.4 Proteínas**

La pared celular vegetal también está compuesta por proteínas estructurales. Estas son ricas en hidroxiprolina y glicina, tienen dominios con secuencias repetidas y están glicosiladas en mayor o menor grado (Ventrella et al. 1997). La mayoría de ellas tienen estructura fibrilar y se inmovilizan mediante enlaces covalente entre ellas o con carbohidratos (Kondo 2000).

Dos Reis (2006) manifestó que estas proteínas se acumulan en la pared en diferentes etapas del desarrollo y en respuesta a diferentes condiciones de estrés.

Se consideran proteínas estructurales de la pared celular vegetal las extensinas o proteínas ricas en hidroxiprolina (HRGPs), las proteínas ricas en prolina (PRPs), las proteínas ricas en glicina (GRPs) y las arabinogalactanas (AGPs).

Incluidas en la red de polisacáridos y proteínas estructurales se encuentran diversas proteínas solubles, algunas de ellas enzimas relacionadas con la producción de nutrientes como la glucosidasa, con el metabolismo de la pared como las xiloglucantransferasas, peroxidasas y lacasas, proteínas relacionadas con defensa y proteínas de transporte, entre otras (Wilson 1993). La mayoría de las proteínas de las paredes celulares de las plantas son glicoproteínas (Akin 1994). Se encuentran en concentración menor de  $50 \mu\text{g g}^{-1}$ , en dependencia del tipo de tejido y del estado de maduración de la planta (Noguera 2004) y desempeñan un papel fundamental en la conexión de los componentes de la pared celular.

#### **a.5 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos representan un grupo amplio de sustancias orgánicas, muy heterogéneas de acuerdo con su composición y estructura química. Este grupo de compuestos se caracteriza por poseer en su estructura química anillos aromáticos, el grupo hidroxílico y una función carboxílica (Hartley y Ford, 1999).

En la pared celular se encuentran principalmente los ácidos fenólicos, compuestos de pesos moleculares relativamente pequeños, que se han

aislado de las paredes celulares por extracción con álcali o tratamiento con celulasas, están unidos a los residuos de glucanos y xilanos. Los principales ácidos fenólicos en los forrajes son el ácido p-coumárico y el ácido ferúlico, que constituyen potentes agentes entrecruzadores en los complejos lignina – carbohidratos e inhiben la utilización de los residuos de carbohidratos asociados a ellos (Wood y Plumb 1995).

Sudekum et al. (1995) apuntaron que los monómeros fenólicos actúan también como constituyentes tóxicos de las paredes celulares, al inhibir la adhesión de los microorganismos a las partículas vegetales y su actividad fermentativa. Por su parte, Forano y Bera (2003) indicaron que los ácidos fenólicos libres, especialmente el ácido p – coumárico, cuando se adicionan a la incubación in vitro, inhiben el crecimiento y la actividad de los protozoos entodiniomorfos, la digestión de la fibra y la celulosa e influyen además, en la actividad de las bacterias que predominan en la digestión de la fibra en los forrajes.

#### **a.6 Lignina**

La lignina (del latín "lignum", leño) constituye el principal polímero natural junto con la celulosa que forma parte de la pared celular de los vegetales. El complejo de Golgi y el retículo endoplasmático liso están involucrados en la biosíntesis y transporte de los monolignoles de la lignina (Terashima y Fukushima 1999). Es responsable de la rigidez de la planta, de la resistencia de los tejidos vasculares, la conducción de solutos, agua y sales minerales necesarias para la supervivencia de la

planta, además de la protección contra fenómenos oxidativos y de ataques de parásitos (Barthes 1992 y Pearce 1999).

Es un polímero fenólico tridimensional, de estructura muy compleja, naturaleza amorfa, derivado de unidades fenilpropanoides denominadas C6C3 o simplemente unidades C9, repetidas de forma irregular (Chen y Robert 1998).

Según Sarkanen y Ludwig (1971) la lignina está compuesta por 3 monómeros fenólicos que varían en la extensión de la metoxilación del anillo aromático

Capanema et al. (2005) indicaron la baja viscosidad específica de las soluciones de ligninas, que pudiera ser la causa de que el grado de polimerización de esta molécula sea mucho menor que el de la celulosa y que los polímeros no están formados por cadenas largas.

Lapierre (1993) clasifica a la lignina en “core o non core” en base a su susceptibilidad relativa a la hidrólisis.  $\frac{3}{4}$  “Core lignina”: matriz fenilpropanoide altamente polimérica y condensada con alto peso molecular, muy resistentes a la degradación. Compuestas por las unidades monoméricas p- hidroxifenil (H), guaiacil (G) y siringil (S).  $\frac{3}{4}$  “Non-core lignina”: formada por monómeros fenólicos, principalmente ácido coumárico y ferúlico, de bajo peso molecular, liberados de la pared celular por hidrólisis, representados por enlaces éster p- hidroxicinámico. En las plantas herbáceas se debe trabajar con ambas definiciones, “non core y core lignina”, para describir el material residual

de los componentes del ácido hidroxicinámico liberado durante la hidrólisis. Así, según Lapierre (1993), los derivados del ácido hidroxicinámico, que están covalentemente ligados a los polímeros de la pared celular y se liberan durante la hidrólisis, constituyen la llamada lignina non core, mientras que los derivados de este ácido que no se liberan durante a hidrólisis constituyen la lignina core. Ambos tipos de lignina actúan juntos como barrera físico-química que limita la degradación anaeróbica de los componentes de la pared por los microorganismos del rumen (Saliba et al. 2001). La heterogeneidad de la core lignina es causada por variaciones en la composición monomérica de la lignina y por los enlaces intramoleculares fuertes con otros componentes de la pared celular (Cherney 2000).

Piló –Veloso et al. (1993) propusieron una clasificación más precisa para la lignina, que está estrechamente relacionada con su composición monomérica. De esta forma, las ligninas se dividen en los siguientes grupos: Tipo G, Tipo G-S y Tipo H-GS.

Aunque existen algunas excepciones, las ligninas de las angiospermas dicotiledóneas están constituidas principalmente por unidades G y S con trazas de unidades H, mientras que las ligninas de las gimnospermas están compuestas por unidades G con bajos niveles de unidades H (Grabber 2005) y estudios realizados por Saliba et al. (1999) verificaron que las ligninas de las gramíneas (monocotiledóneas) incorporan

unidades G y S en niveles comparables a las dicotiledóneas y más unidades H que estas.

Con la revisión de la amplia literatura disponible relacionada con la caracterización química y estructural de los principales componentes de la pared celular, se confirmó que la estructura de la pared celular vegetal es muy compleja y variable, tanto química como histológicamente y su función está controlada por la composición química y organización estructural de sus componentes individuales, que son los que pudieran condicionar el modo de ataque microbiano a los polisacáridos estructurales, y en último término, el ritmo y extensión de la degradación por los microorganismos ruminales. A continuación se abordarán los aspectos relacionados con este complejo proceso de digestión microbiana ruminal.

### **2.1.2 Digestión microbiana ruminal de los carbohidratos de los forrajes.**

El contenido de carbohidratos de los forrajes que consumen los rumiantes varía desde azúcares simples hasta los componentes de la pared celular de las plantas, de elevada complejidad estructural y alto peso molecular. El grado y velocidad de degradación de los carbohidratos varían según el tipo y estructura de los mismos y de acuerdo con la población microbiana predominante (Wattiaux y Armentano 2002). En general, los carbohidratos no estructurales se degradan rápidamente, mientras que la degradación de los polisacáridos estructurales tiene rapidez variable.

Los materiales de más difícil y lenta degradación son la celulosa y hemicelulosas presentes en las paredes celulares, lo que pudiera estar relacionado por su estrecha asociación con la lignina.

Cuando los carbohidratos de la dieta entran al rumen se hidrolizan por la acción de las enzimas de origen microbiano (Anon, 2004). El almidón se fermenta por la amilasa de los microorganismos ruminales a maltosa para dar glucosa- 1 fosfato y finalmente los Ácidos Grasos de Cadena Corta (AGCC) vía Embden-Meyerhof. La glucosa y otros oligosacáridos se absorben por los microorganismos y una vez en el citoplasma celular se incorporan a la vía de la glucólisis. Este proceso enzimático da lugar a la formación de NADH+H (NAD reducido), ATP y piruvato, intermediario universal que actúa como aceptor de electrones (figura 4). La energía potencial representada por el ATP en este momento no es directamente accesible para el animal, pero representa la principal fuente de energía para el mantenimiento y crecimiento de los microorganismos (Russell y Wallace 1997).

Si la digestión ruminal ocurriera bajo condiciones aeróbicas, el piruvato sería transformado en la mitocondria para generar CO<sub>2</sub> , H<sub>2</sub>O y ATP a través del ciclo de Krebs, cadena respiratoria y ATPasa, proceso que en su conjunto involucra la restauración de NAD (NAD oxidado). Pero el rumen es un sistema altamente anaeróbico y reductor, por lo que se debe proveer de un mecanismo diferente para la restauración de NAD oxidado. El piruvato sufre una reducción mayor con el fin de ofrecer el

material necesario para la regeneración del NAD oxidado y el retiro general del NAD reducido con la producción adicional de ATP (De Arriba 1988). Este proceso transformador del piruvato da lugar a los productos terminales de la digestión fermentativa de los carbohidratos, los AGCC: acético ( $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ), propiónico ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-COOH}$ ) y butírico ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$ ) (Nava y Díaz 2003)

Los microorganismos del rumen utilizan los AGCC en la formación de aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga, los que se incorporan, posteriormente, al metabolismo bacteriano. Sin embargo, la mayor parte de éstos se incorporan al líquido ruminal y se difunden a través del epitelio del rumen y del retículo. El resto se absorbe en el omaso, para incorporarse a la circulación general a través de la vena porta (Calsamiglia y Navarro 2005). Los AGCC representan más del 70% del suministro de energía al rumiante. El resto de la energía se obtiene a partir de las proteínas (aminoácidos que se absorben en el intestino delgado), ácidos grasos de cadena ramificada, ácido láctico y glicerol (Warren 1996).

Los disacáridos y los almidones que escapan a la fermentación ruminal (almidón sobrepasante) pasan al intestino delgado donde se digieren por las enzimas pancreáticas e intestinales (amilasa, oligo-1,6-glucosidasa y disacaridasa), en la misma forma que en los animales monogástricos (Ruiz y De Arriba 1987).

**a) Digestión de carbohidratos estructurales de las paredes celulares.**

La digestión microbiana ruminal de los carbohidratos estructurales implica complejas interacciones entre los componentes de la pared, los microorganismos ruminales y la actividad motriz del rumen, que conducen a la desintegración de las partículas alimentarias y el mezclado y propulsión de la digesta.

Según Ramírez et al. (2002) este complejo proceso se lleva a cabo en dos etapas fundamentales. La colonización de los sustratos que llegan al rumen y la adhesión íntima de los microorganismos a estas estructuras vegetales, seguido por la acción enzimática en dichos sustratos, independientemente de la posible utilización de los productos resultantes.

Por la importancia de ambas etapas en la digestión microbiana ruminal de los carbohidratos estructurales, a continuación se examinarán con profundidad.

**b) Mecanismos de colonización y adhesión de los microorganismos ruminales a la pared celular.**

Un requisito primordial para la digestión de los carbohidratos estructurales de las paredes celulares vegetales es la capacidad de adhesión de los microorganismos del rumen a éstos (Gong y Forsbergs,

1989), posiblemente porque el ataque requiere de la unión física de los microorganismos a la superficie de la partícula vegetal.

Esta adhesión es seguida por la colonización exitosa dentro de la población adherente, hasta que se forma el consorcio digestivo activo y los nutrientes se liberan a partir de la digestión del sustrato (Forsbergs et al. 2000). El grado de colonización y el modo de ataque son específicos para cada especie microbiana. Varios autores coinciden en que la estrecha adhesión al sustrato permite mayor eficiencia de la hidrólisis enzimática y disponibilidad de los productos de la digestión de la pared, además de proteger de la predación de otras especies y aumentar el tiempo de retención en el rumen (Chesson y Forsberg 1997 y Dehority y Tirabasso 1998).

Las bases moleculares de los mecanismos de adhesión de las bacterias apenas están estudiadas y el conocimiento de los mecanismos celulares de adhesión de los protozoos y hongos ruminales es escaso (McAllister et al. 1994 y Govea 2006). Al respecto, Pell y Schofield (1993) subrayaron que las estructuras específicas implicadas en la adhesión bacteriana son el glicocálix, los celulosomas y los sectores de enlace de enzimas celulolíticas.

El glicocálix es la cápsula glicoproteica externa que envuelve a las bacterias celulolíticas principales (Fibrobacter succinogenes, Ruminococcus albus y Ruminococcus flavefaciens), y ha sido puesta en

evidencia, fundamentalmente, a partir de estudios de microscopía electrónica (Latham et al. 1978 y Stack y Hungate

1984). Estos estudios sugieren que, diversas proteínas, junto con algunos lípidos de la superficie celular, deben estar implicadas en los procesos de adhesión.

Según Bayer et al. (1998), los celulosomas son complejos polipeptídicos esféricos, multienzimáticos y multifuncionales de alta masa molecular, que median la adhesión celular a la celulosa y la eficiencia de solubilización de la celulosa cristalina. La estructura del celulosoma se descubrió y además se describió por primera vez en *Clostridium thermocellum* y en la actualidad se considera uno de los mayores paradigmas moleculares de la celulolisis bacteriana y de la adhesión a la celulosa.

Se han encontrado aspectos que evidencian la presencia de celulosomas en microorganismos celulóliticos ruminales (Gordon y Phillips 1995). Los celulosomas, al favorecer el contacto íntimo de la bacteria y de sus enzimas con las partículas vegetales, pudieran aumentar la magnitud de la acción enzimática en éstas.

### **c) La acción enzimática en los polisacáridos estructurales.**

De acuerdo con lo planteado por Fondevila (1998), cuando ocurre la colonización de los sustratos que llegan al rumen tiene lugar la acción enzimática en estos. La degradación de la celulosa, las hemicelulosas o

la pectina se lleva a cabo por diferentes complejos enzimáticos, donde varias enzimas actúan específicamente en los enlaces entre las unidades de carbohidratos (Bernalier et al. 1992). La habilidad de los organismos para digerir la pared celular depende de la forma, diversidad y modo de acción de estas enzimas (Gutiérrez 2006). Según Montalbetti (2004), los microorganismos de los tres grupos principales presentes en el rumen son capaces de degradar polisacáridos estructurales, pero la importancia de los géneros y especies de protozoarios, hongos o bacterias en la digestión total de la pared celular de los forrajes depende de tres tipos de factores: ecológicos, como su abundancia en el rumen o su relación con otras especies microbianas; factores relacionados con el sustrato, como la estructura anatómica y composición química de los forrajes y las condiciones ambientales para la fermentación.

Las enzimas implicadas en los diversos procesos de degradación de la celulosa y hemicelulosas de la pared celular vegetal, parecen estar muy distribuidas entre las especies celulolíticas de microorganismos ruminales. Como ejemplo, *Fibrobacter succinogenes*, uno de los organismos más estudiados, produce al menos 8 glucanasas diferentes, una celodextrinasa, una celobiosidasa y una celobiasa, además de una endoxilanasas, una glucuronidasa, varias esterasesas y una arabinofuranosidasa (Dehority 2003). Los hongos ruminales también producen un complejo enzimático celulasa muy activo frente a celulosa cristalina, además de xilanasas muy activas y altos niveles de ferúlico y cumárico esterasesas (Bohatier et al. 1990). El Polyplastron

multivesiculatum produce una endoglucanasa y una  $\beta$ - glucosidasa (Michalet – Doreau et al. 2002). Esta gran diversidad de enzimas se justifica teniendo en cuenta la variabilidad y complejidad de la estructura química de la pared celular vegetal. Por otra parte, es curioso que cada microorganismo, en lugar de una sola, produzca varias enzimas que actúan de forma muy similar.

#### **d) Hidrólisis de la celulosa.**

La hidrólisis de la celulosa es fundamentalmente enzimática. Las celulasas son mezclas de enzimas con diferentes actividades y especificidad (Orpin 1983). En general, comprende tres clases de enzimas a considerar: endoglucanasas (endo 1,4  $\beta$  glucanasas, EC 3.2.1.4); exoglucanasas, que incluye celobiohidrolasa (1,4  $\beta$ -D glucan celobiohidrolasa) y exoglucohidrolasa (1,4  $\beta$ -D glucan glucohidrolasa EC 3.3.1.74) y  $\beta$  glucosidasas (EC 3.2.1.21) (Vadiveloo, 2000).

Las endoglucanasas actúan en las bandas glucosídicas internas a lo largo de las cadenas de poliglucanos, son activas para la celulosa amorfa y derivados solubles en agua liberando celulosa, celobiosa, celotriosa y otros oligómeros altos. Sin embargo, son menos activas en la celulosa cristalina. Por su parte, las exoglucanasas actúan en las cadenas de poliglucanos liberando unidades de celobiosa o glucosa. La celobiohidrolasa es más activa en la celulosa altamente cristalina y las exoglucanasas actúan en las celulodextrinas solubles (Vidart 2003).

La  $\beta$ -1,4 glucosidasa hidroliza celulosa y celulodextrinas solubles en agua a unidades de glucosas y se consideró que los hongos son superiores que las bacterias en su habilidad para degradar celulosa (Wallace y Munro 1996).

Según Silva et al. (2005), este proceso se inicia con el ataque de endo -1,4  $\beta$  glucanasas (celobiohidrolasas) a las regiones más amorfas de la celulosa, rompe aleatoriamente las cadenas en celodextrinas y crea extremos libres para la acción de exo -1,4  $\beta$  glucanasas, que liberan unidades de celobiosa a partir del extremo de la cadena. Estas celobiosas son finalmente hidrolizadas a glucosa por  $\beta$ - glucosidasas (Hungate 1988).

#### **e) Hidrólisis de las hemicelulosas.**

La hidrólisis de estas moléculas complejas requiere de la interacción de cadenas simples y complejas de enzimas. Anon (2004) clasificó las principales enzimas involucradas en la hidrólisis de las hemicelulosas como: endo  $\beta$ -1,4 xilanasas ( $\beta$ -1,4 -D xilan xilanohidrolasa EC 3.2.1.8), las cuales hidrolizan los esqueletos  $\beta$ -1,4 xilosa; la  $\beta$ -1,4 xilosidasa ( $\beta$ -1,4 -D xilan xilanohidrolasa EC 3.2.1.37) que hidrolizan xilobiosa a otros xilooligómeros liberados por las endoxilanasas; enzimas desramificadoras tales como la O- glucoronidasa y la O- L

arabinofuranosidasa (EC 3.2.1.55) y acetilesterasas (EC 3.1.1.6). Krause et al. (1999) argumentaron que las tres especies de bacterias celulolíticas principales del rumen tienen depolimerasas con capacidad de romper las cadenas de hemicelulosas.

### **2.1.3 Papel de los microorganismos ruminales en el proceso de digestión de los carbohidratos estructurales de las paredes celulares.**

En el rumen, uno de los ecosistemas más extensivamente estudiado, habita la comunidad microbiana que se caracteriza por su alta densidad de población, amplia diversidad y complejidad de interacciones (Woese et al. 1990). Contiene gran número de bacterias (más de 1011 células mL<sup>-1</sup>, que comprenden alrededor de 200 especies), protozoarios ciliados (104-106 células mL<sup>-1</sup> distribuidos en 25 géneros), hongos anaerobios (densidades de población de zoospora de 103-105 mL<sup>-1</sup> divididos en cinco géneros) y bacteriófagos (107-109 partículas mL<sup>-1</sup>) (Klieve y Swain 1993, Stewart et al. 1997 y Williams y Coleman 1998) y todos ellos desempeñan un papel importante en el proceso de digestión de los carbohidratos estructurales de las paredes celulares.

#### **a) Papel de las bacterias**

Las bacterias son microorganismos muy activos en la digestión de la pared celular, tanto cualitativamente, por su alta actividad enzimática, como a nivel cuantitativo, por la magnitud de su repercusión debida a su elevada concentración en el rumen (Fondevila y Dehority 1996 y Miramontes 2005).

Las tres especies de bacterias celulolíticas predominantes, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* y *R. albus*, tienen características peculiares que las diferencian de otras especies que pueden estar también relacionadas con el proceso de digestión de la pared celular vegetal (Wallace 1994 y Koike y Kobayashi 2001).

Las bacterias celulolíticas se caracterizan por su alta especialización nutritiva. Según Weimer et al. (1999) la mayoría de las especies bacterianas que fermentan carbohidratos, pueden utilizar gran variedad de monosacáridos y disacáridos como nutrientes que incluyen aquellos derivados de la fermentación de polisacáridos estructurales. Sin embargo, las bacterias celulolíticas utilizan únicamente celulosa y sus productos como nutrientes (Hespell et al. 1997). Estas sintetizan grandes cantidades de enzimas, que garantizan su acción frente a la amplia gama de sustratos e hidrolizan la celulosa y las hemicelulosas con relativa velocidad (Ohlde et al. 2002).

Las celulasas se localizan, primordialmente, en la superficie de las bacterias (Stewart et al. 1997 y Park et al. 2000) para favorecer el contacto físico con el sustrato. En este sentido, las bacterias celulolíticas desarrollan diversos mecanismos muy especializados de adherencia íntima a estos sustratos, que evitan la degradación de las celulasas por las proteasas ruminales, protegen de la acción depredadora de los protozoos, además de favorecer la captación preferente de los

productos de la hidrólisis respecto a otras especies (Orpin y Joblin 1997).

### **b) Papel de los hongos**

Los hongos anaerobios poseen gran habilidad para colonizar las paredes celulares lignificadas y debilitar los tejidos fibrosos de las plantas en el rumen (Akin y Borneman 1990). Poseen amplia variedad de potentes enzimas que pueden degradar los principales carbohidratos estructurales de las paredes celulares de las mismas (Wubah et al. 1993 y Park et al. 2000) y fermentar los monosacáridos resultantes de esta degradación. Fonty (1991) informó que la eficiencia de degradación de la población fúngica es igual o mayor que la de la población microbiana total del rumen.

De acuerdo con lo planteado por Phillips y Gordon (1995) y Gordon et al. (2001), los hongos tienen carácter estratégico en la digestión de alimentos fibrosos y son muy importantes en la digestión de forrajes de baja calidad, lo que puede estar muy relacionado con su activa colonización. Se ha sugerido que los hongos anaeróbicos desempeñan un papel importante, debilitando los tejidos lignificados (Ho y Barr 1997). Este efecto pudiera ser la causa del incremento sustancial de la digestión, al facilitarse la fractura de éstos, con aumento de los sitios disponibles para la colonización bacteriana. Sin embargo, aún permanece la incógnita de las vías (acción enzimática, mecánica o

combinada) por las cuales los hongos anaeróbicos penetran las paredes celulares vegetales.

Aunque no hay evidencias de que los hongos anaeróbicos pueden utilizar la lignina como fuente de carbono, *Neocallimastic frontalis* puede solubilizar pequeñas cantidades de lignina de la pared celular vegetal (Akin y Benner 1988 y Hespell et al. 1997), probablemente debido a que es capaz de atacar los compuestos fenólicos, en mayor medida que las bacterias (Borneman y Akin 1990 y Akin et al. 1995), lo que aumenta la accesibilidad de los polisacáridos estructurales a las bacterias. Mc Sweeney et al. (1994) informaron que *Neocallimastic patriciarum* fue capaz de solubilizar 33.6 % de la lignina contenida en el tallo de sorgo.

### **c) Papel de los protozoos**

Los protozoos tienen variable efecto en la digestión de la fibra vegetal, dependiendo del papel y de la importancia relativa de los distintos géneros y especies en el ecosistema ruminal (Williams y Coleman 1988 y Belzecki y Michalowski 2004). En general, la presencia de protozoos aumenta, directa o indirectamente, la digestión ruminal de celulosa y hemicelulosa respecto a los animales defaunados (Nguyen et al. 2001).

Aunque la actividad enzimática de las endoglucanasas,  $\beta$ -celobiosidasas y  $\beta$ -glucosidasas, relacionadas con la hidrólisis de la celulosa, por una parte, y hemicelulasas y xilanasas, por otra, están ampliamente distribuidas entre los protozoos del rumen (Santra y Karim 2002) y, actualmente se continúa especulando si su acción es consecuencia, al

menos en parte, de las bacterias que contienen como resultado de su acción predatoria (Dehority 1990 y Jouany 1996).

Jouany y Ushida (1994) observaron que los protozoos de los géneros *Eudiplodinium* y *Polyplastron* degradaban 30% de la celulosa cristalina, mientras Michalowski et al. (2001) constataron que *Epidinium* la degrada en 10%. La capacidad de degradar los derivados celulósicos, tales como hexaetilcelulosa y carboximetilcelulosa es mayor para todos los géneros, aunque es menor en *Entodinium* e *Isotricha*. No obstante, el crecimiento de protozoos en medios de cultivo que contienen polisacáridos estructurales, como única fuente de energía respecto a un medio sin este sustrato, es muy variable y sólo *Eudiplodinium* y *Epidinium* respondieron positivamente a la incorporación de una fuente de celulosa o de xilano (Miramontes 2005).

La capacidad de los protozoos de adherirse a las partículas de la pared celular es reducida, excepto en el caso de los Holotricos, estimulado probablemente por quimiotactismo hacia azúcares solubles, aunque su actividad fibrolítica es escasa (Orpin 1983). *Epidinium* se adhieren a las partículas por una zona situada en su parte anterior; luego, vierten enzimas extracelulares que van rompiendo los tejidos vegetales en pequeños fragmentos que se ingieren y posteriormente se digieren, intracelularmente (Bauchop 1989).

De manera general, se puede señalar que la digestión microbiana ruminal de los carbohidratos estructurales de los forrajes constituye la

pedra angular de la fisiología digestiva de los rumiantes. Diversas especies de hongos, bacterias y protozoos están implicadas en este proceso, tanto directa como indirectamente, lo que muestra la necesidad de abordar el ecosistema ruminal globalmente para comprender su actividad, con vistas a optimizar la utilización de los forrajes por los rumiantes, así como establecer las estrategias de alimentación y de manipulación del ambiente que contribuyan a conseguir este objetivo.

Sin embargo, para la comprensión y estudio más profundo del complejo proceso de digestión de los carbohidratos estructurales, no solo se debe tener en cuenta el papel que desempeñan los microorganismos ruminales y la actividad motriz del rumen, sino también las características químicas y estructurales de los forrajes.

El impetuoso desarrollo de la ciencia y la técnica ha brindado la posibilidad a los especialistas de la rama, de contar con la microscopía electrónica de barrido, la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS), la resonancia magnética nuclear, entre otras novedosas técnicas moleculares, que constituyen eficaces herramientas para el estudio de la estructura y composición química de los forrajes Paciuolo (2002).

Investigaciones realizadas empleando estas novedosas técnicas confirmaron que la conformación estructural, organización anatómica, así como la composición química de las paredes celulares influyen directamente en la digestión ruminal de los carbohidratos estructurales

de los forrajes, al determinar el grado de adhesión microbiana y de acción enzimática en la pared celular vegetal (Akin 1994 y Wilson 1998).

Por lo anteriormente expuesto, a continuación se debatirán aspectos relacionados con el impacto de estas características en el proceso de digestión microbiana ruminal de los carbohidratos estructurales de los forrajes.

#### **2.1.4 Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) Como forraje.**

Recientemente se está introduciendo el pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) En la alimentación de ganado de leche en el distrito de Majes, obteniéndose resultados empíricos muy promisorios. La información que existe sobre el origen, clasificación taxonómica, caracterización agronómica y calidad nutricional de este pasto es, sin embargo, muy fraccionada y confusa.

El origen del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) Permanece aún confuso pero los estudios preliminares realizados en el Herbario MEDEL de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, indican que puede tratarse de *Pennisetum violaceum* Rich. Ex Pers. O de un híbrido (*Pennisetum hybridum*) entre el *Pennisetum americanum* L. y el *Pennisetum purpureum* Schum comercializado en el Brasil como pasto Elefante Paraíso. Se requiere, sin embargo, estudios más detallados para esclarecer su clasificación taxonómica por lo que se sugiere identificarlo de manera genérica como *Pennisetum sp.* (Correa, 2004)

### a) Pasto Maralfalfa (*Pennisetum* sp.)

La Maralfalfa (*Pennisetum* sp.) es un pasto (gramínea) mejorado, con una alta capacidad de producción de forraje de buena calidad nutricional y que, al tratarse de un pasto de corte, permite incrementar la producción por hectárea; su origen no está bien esclarecido. (Correa, 2004)



Figura 1. Pasto Maralfalfa (*Pennisetum* sp) (Correa, 2004)

### b) Origen

El origen del pasto Maralfalfa (*Pennisetum* sp.) (*Pennisetum* sp) es aún muy incierto. Existen varias hipótesis al respecto entre las que se encuentra la del sacerdote Jesuita José Bernal Restrepo (1979) quien aseguraba que fue el resultado de la combinación de varios recursos forrajeros entre los cuales están el pasto elefante (*Pennisetum purpureum*), una grama nativa (*Paspalum macrophyllum*), el gramalote

(*Paspalum fasciculatum*), la alfalfa peruana (*Medicago sativa*) y el pasto brasilero (*Phalaris arundinacea*). Sostenía, además, que este pasto fue una creación suya resultado de la aplicación del denominado Sistema Químico Biológico (S.Q.B), desarrollado por este mismo autor y que es propiedad de la Universidad Javeriana. Los fundamentos y la metodología que sigue el SQB no son descritos por Bernal (1979) lo que le resta seriedad y credibilidad a sus publicaciones. Por otro lado, Sánchez y Pérez afirman que dicho pasto podría corresponder a un *Pennisetum hybridum* comercializado en Brasil como Elefante Paraíso Matsuda coincidiendo con lo que afirma Hajduk (2004). Este pasto fue el resultado de la hibridación del *Pennisetum americanum* (L.) Leeke con el *P. purpureum* Schum (Hanna *et al*, 1984). Según Hanna *et al* (1984), este híbrido es un triploide que puede ser obtenido fácilmente y combina la calidad nutricional del forraje del *pennisetum americanum* (L.) con el alto rendimiento de materia seca del *P. purpureum* Schum. Este híbrido, sin embargo, es estéril por lo que para obtener híbridos estériles se ha utilizado Colchicina con lo que duplica el número de cromosomas y se obtiene un híbrido hexaploide fértil (Macon, 1992). Diversos híbridos han sido desarrollados en Estados Unidos con muy buenos resultados tanto en producción como en calidad nutricional (Macon *et al*, 2002).

El *Pennisetum hybridum* fue introducido al Brasil en 1995 a través de la Empresa Matsuda (Vilela, 2004). Actualmente existen algunas variantes disponibles en el Brasil que han sido sometidas a evaluaciones

agronómicas (Lira *et al*, 1998; Vilela *et al*, 2003a) y productivas (Vilela *et al*, 2003b) con resultados muy promisorios. De esta manera, si el pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) utilizado en Antioquia corresponde al *P. hybridum* comercializado en Brasil como elefante paraíso matsuda, será necesario establecer, además, a cual (o cuales) variedad corresponde. (Correa, 2004)

### c) Características taxonómicas

La identificación y clasificación taxonómica de las gramíneas no es fácil (Häfliger y Scholz 1980). Las gramíneas, como familia, son fácilmente reconocidas pero resulta difícil distinguir los diferentes géneros y especies. Incluso para los botánicos más versados y experimentados resulta complicado poder establecer con claridad la clasificación taxonómica de muchas gramíneas. Tal es el caso de la Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) (*Pennisetum sp.*). Esto se debe posiblemente a que la mayoría de las gramíneas no posee perianto y si lo tienen es muy reducido y, además, presentan un ovario muy simple. Así, estas dos características tan importantes para las dicotiledóneas, son casi completamente inexistentes en las gramíneas. Mientras que dicha ausencia esta compensada por otras características, estas a su vez no son tan evidentes (Häfliger y Scholz 1980).

Las gramíneas pertenecen a la familia Poaceae, la más grande de las familias del reino vegetal. Según Dawson y Hatch (2002) dicha familia está compuesta por 5 sub-familias, las cuales presentan un alto grado

de variabilidad, de manera que la asignación de un ejemplar a una determinada sub-familia se basa más en el número de caracteres compartidos con otros miembros de un grupo determinado, que en uno o en algunos caracteres claves (Häfliger & Scholz 1980). En cualquier caso la Panicoideae es una de las sub-familias dentro de la cual se encuentra la tribu Paniceae. Dentro de esta tribu, a su vez, se encuentra el género *Pennisetum* el cual agrupa a cerca de 80 especies (Dawson y Hatch, 2002).

Muestras del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) obtenidas de la finca Guamurú, en San Pedro de los Milagros (Antioquia), fueron analizadas en el Herbario MEDEL de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, identificándolo tentativamente como *Pennisetum violaceum* (Lam.) Rich. ex Pers. sin embargo, no existe total certeza sobre su identidad y que, ya sea que se trate de una especie silvestre o del híbrido mencionado anteriormente (*P. americanum* L. x *P. purpureum* Schum), su identificación correcta requerirá de estudios morfológicos y citogenéticos adicionales. La variabilidad del denominado pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) deja un nivel de incertidumbre que sólo se podría aclarar mediante un muestreo general en diferentes sitios que indique la variación geno y fenotípica de la especie (Correa, 2004).

Cuadro Nro 01. Clasificación taxonómica del género *Pennisetum*

Familia	Sub-familias	Tribus	Géneros	Especies
<b>Poaceae</b>	<i>Pooideae</i> <i>Chloridoideae</i> <i>Oryzoideae</i> <i>Bambusoideae</i> <b><i>Panicoideae</i></b>	<i>Andropogoneae</i> <i>Festuceae</i> <i>Hordeae</i> <i>Agrostideae</i> <b><i>Paniceae</i></b>	<i>Axonopus</i> <i>Brachiaria</i> <i>Cenchrus</i> <i>Digitaria</i> <i>Echinochloa</i> <i>Eriochloa</i> <i>Melinis</i> <i>Panicum</i> <i>Paspalidium</i> <i>Paspalum</i> <b><i>Pennisetum</i></b>	<i>americanum</i> <b><i>purpureum</i></b> <i>clandestinum</i> <i>typhoides</i> <i>violaceum</i> <i>villosum</i>

Adaptado de Dawson y Hatch, 2002.

La aclaración final sobre la identidad del pasto Maralfalfa (*Pennisetum* sp) depende, entonces, de la posibilidad de establecer un patrón morfológico diferenciable de otros pastos similares como el Elefante (*P. purpureum* Schum) y sus variantes, realizar colecciones y análisis morfológicos y confrontar con varias fuentes de información confiable sobre las características taxonómicas de la especie (incluyendo descripción original). Así mismo, es necesario realizar confrontaciones con un ejemplar “tipo”, enviar muestras a un especialista en Brasil, así como establecer el cariotipo de muestras de este pasto (Correa, 2004). Solo la caracterización morfológica, fitoquímica y genética de los *Pennisetum* que se comercializan actualmente en el país, permitirá obtener pautas más objetivas para su certificación y evitar la especulación en el mercado. Adicionalmente, un estudio de este tipo

permitiría tener bases científicas para adelantar programas de mejoramiento que pueden resultar en cultivares de mejores características que lo que hoy se conoce como Maralfalfa (*Pennisetum sp*) (Correa, 2004).

#### **d) Órganos Vegetativos.**

Las raíces del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) son fibrosas y forman raíces adventicias que surgen de los nudos inferiores de las cañas. Estas cañas conforman el tallo superficial el cual está compuesto por entrenudos, delimitados entre sí, por nudos. Los entrenudos en la base del tallo son muy cortos, mientras que los de la parte superior del tallo son más largos. Los tallos no poseen vellosidades. Las ramificaciones se producen a partir de los nudos y surgen siempre a partir de una yema situada entre la vaina y la caña.

La vaina de la hoja surge de un nudo de la caña cubriéndola de manera ceñida. Los bordes de la vaina están generalmente libres y se traslapan. Es muy común encontrar bordes pilosos, siendo esta una característica importante en su clasificación (figura 02 - a). La lígula, que corresponde al punto de encuentro de la vaina con el limbo, se presenta en corona de pelos (figura 02 - b). Mientras que la longitud y el ancho de las hojas pueden variar ampliamente dentro de una misma planta, la relación entre estas dos medidas parece ser un parámetro menos variable y muy útil al momento de clasificar las gramíneas (Häfliger y Scholz 1980). En el caso particular del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) el

comportamiento de esta característica fue diferente. La presencia de pelos en el borde de las hojas, es otro elemento fundamental en la descripción de esta especie (Figura 02)

Figura Nro 02. Morfología de las hojas del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*)

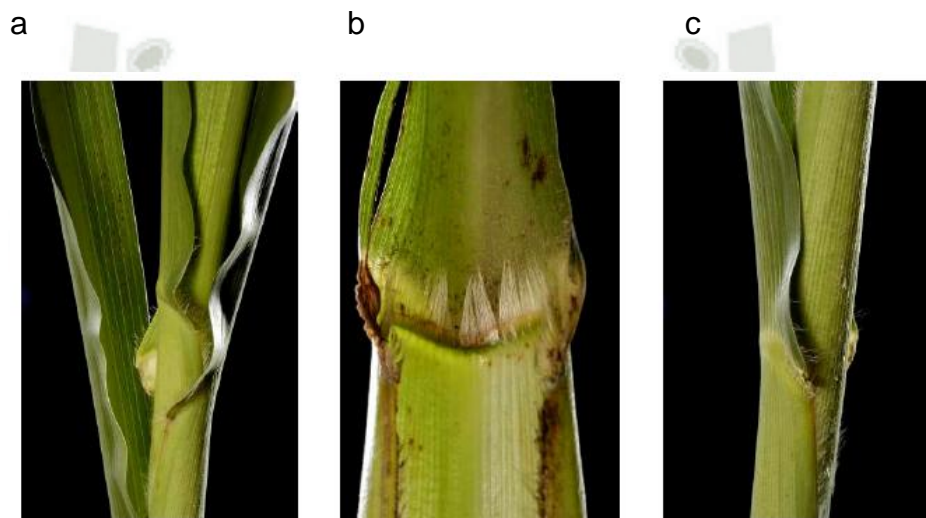


Figura 2 Morfología de las hojas del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*)

### e) Órganos Reproductivos

En general, lo que se considera como la flor de las gramíneas no es más que una inflorescencia parcial llamada espiga. De acuerdo con la ramificación del eje principal y la formación o no de pedicelos en las espigas, se pueden distinguir diversos tipos de inflorescencias siendo las más generales la espiga, la panícula y el racimo. En el caso particular del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*), las inflorescencias se presentan en forma de panícula las cuales son muy características del género *Pennisetum* (Häfliger y Scholz 1980).

En este tipo de inflorescencia, del eje principal surgen ramificaciones verticiladas o individuales que se siguen ramificando. Las panículas son contraídas y presentan ramas primarias reducidas a fascículos espinosos, con una o más espigas terminadas en espinas. Se da una desarticulación en la base de los fascículos, y estos forman espinas con bases transversales espinosas, y barbas punzantes hacia afuera y hacia arriba (Häfliger y Scholz 1980). Las espiguillas en el pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) es típica del género *Pennisetum*, esto es, presenta seis brácteas: dos glumas, dos lemas y dos paleas. Sin embargo, hace falta adelantar una descripción más detallada de las mismas. Algunas claves para su clasificación a partir de las estructuras que se pudieran hallar, son las siguientes: las flores bajas pueden ser estériles y vigorosas o sin estambres, las flores superiores pueden ser fértiles, con un tamaño entre la mitad o igual al de las flores inferiores; las primeras glumas pueden estar fusionadas con callos, sin rodear la base de la espiga y sin aristas; la lema de la parte superior es suave, sin arista, de color café a amarillo o púrpura, glabrosa, con márgenes redondeadas o planas, sin aristas; la palea de las flores superiores están presentes. Poseen tres estambres; y las anteras son oscuras o grises (Dawson y Hatch, 2002).



Figura 3 Inflorescencia del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) (Correa, 2004)

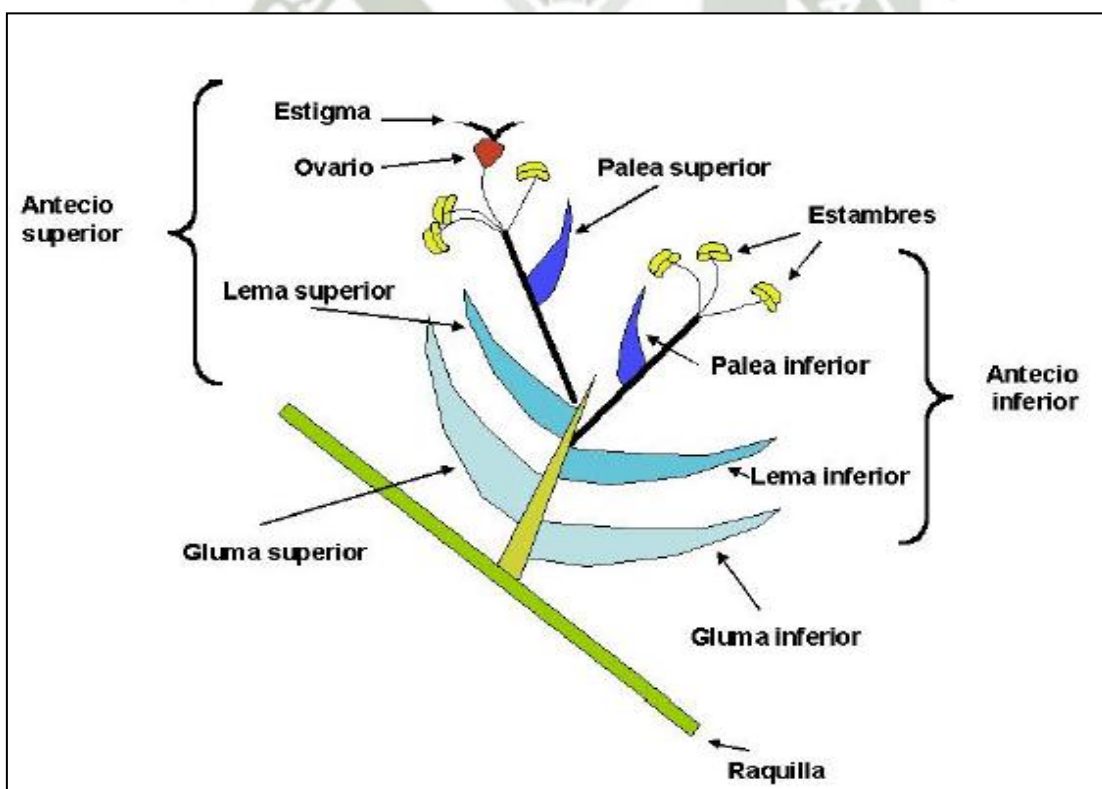


Figura 4 Esquema de las espiquillas del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) (Correa, 2004)

### 2.1.5 Algunos antecedentes y el estado actual de diferentes técnicas de evaluación de los alimentos para rumiantes

Según Rosero y Posada (2006), la digestión de los rumiantes es un proceso complejo que involucra múltiples interacciones entre la dieta, los microorganismos ruminales y el hospedero. Separar el proceso en sus distintos componentes permite un mejor entendimiento de su dinámica y facilita su descripción matemática. Los modelos matemáticos permiten estudiar y estimar parámetros que describen la naturaleza intrínseca de los alimentos y las interacciones de los nutrientes que limitan su digestión.

#### a) Técnica *in situ* para determinar la degradabilidad ruminal de los alimentos

Según Blaxter, (1986), los métodos de laboratorio para estimar el valor nutritivo de los alimentos se han mejorado desde las primeras ideas en el año 1725, cuando los alimentos para rumiantes eran evaluados como Unidades de Paja. Inicialmente, las técnicas fueron diseñadas para caracterizar el valor nutritivo más que para predecir la producción de los animales. Flatt, (1988) señala que la mejoría de los métodos de evaluación de alimentos tiene que seguir los nuevos conceptos de la química y la fisiología animal, así como los nuevos conocimientos de la microbiología del rumen y otros campos afines del saber.

Según Doreau y Ould-Bah, (1992), por ahora, la técnica de la bolsa en rumen o *in sacco* es posiblemente el método más utilizado, a pesar de que se le han señalado algunos inconvenientes. Algunos otros procedimientos son utilizados también, tales la prueba de solubilidad de la proteína, la técnica de digestibilidad *in vitro* (Tilley y Terry, 1963), el método enzimático (Jones y Hayward, 1975), la técnica de simulación del rumen, RUSITEC (Czerkawski y Brekenridge, 1977), así como la técnica de producción de gas *in vitro* (Menke, *et al.*, 1979; Menke y Steingass, 1988).

En los últimos años se retoman y desarrollan con vigor técnicas de evaluación de alimentos que no impliquen daños a la integridad física de los animales y que de forma relativamente rápida y barata brinden resultados fiables. Tal es el caso de la identificación de derivados del metabolismo animal, básicamente de purinas, excretados en la orina para cuantificar la producción microbiana en el rumen (Chen, *et al.*, 1990, Chen y Gomes, 1995) o el uso de los alcanos como marcadores para estimar las proporciones de plantas consumidas por los animales (Mayes, 1993).

Se destacan también algunas técnicas *in vitro* para valorar la digestibilidad intestinal de los alimentos (Calsamiglia y Stern, 1995; Stern, *et al.*, 1997). Muchas de estas técnicas se encuentran aún en desarrollo y perfeccionamiento y están igualmente sujetas al

reto de representar, lo más fielmente posible, en el laboratorio, aquellos procesos que involucran a los animales en su interacción con los alimentos.

#### **b) Técnica *in situ* para estudiar la degradabilidad ruminal**

Inicialmente el método se utilizó exitosamente para evaluar diferentes alimentos y para determinar la efectividad del tratamiento con formaldehído a los suplementos proteicos (Erwin y Ellison, 1959; Rodríguez, 1968; Demarquilly y Chenost, 1969). Los resultados de dichos estudios eran obtenidos a partir de un solo tiempo de incubación, lo cual presentó algunos puntos débiles. Mehrez y Ørskov (1977) propusieron el uso de este método como rutina para evaluar el rango de degradabilidad ruminal de las proteínas, incubando varias bolsas con vistas a obtener una evaluación cinética de la degradación.

El método *in situ*, también denominado de la bolsa de nylon o *in sacco*, tiene como objetivo fundamental medir la desaparición de materia seca y orgánica, el nitrógeno u otro nutriente de los alimentos sometidos al efecto del ambiente ruminal; para ello los alimentos son colocados en bolsas que se incuban en el rumen, a través de una cánula permanente en el saco dorsal de este órgano. Según Quins *et al.*, (1939), en los primeros experimentos se usaron bolsas de seda, las que fueron remplazadas posteriormente por otros tejidos como el nylon, el poliéster y el dacrón.

Van Soest *et al.*, (1978) y Ørskov *et al.*, (1988) han sugerido el uso de los datos de la cinética de degradación para mejorar la estimación del valor nutritivo de los alimentos, cuando se utilizan tanto métodos *in vitro* como *in sacco*. Este enfoque dinámico mejoró marcadamente el potencial de esta técnica, como fue demostrado por Ørskov *et al.*, (1980) en la evaluación de forrajes.

### c) **Determinación de nitrógeno en proteínas por el método de Kjeldahl**

El problema que representa proporcionar proteínas adecuadas a la población del mundo es un tanto secundario en el problema general de alimentación mundial. Además de su significado nutritivo las proteínas juegan un papel importante en las propiedades organolépticas de los alimentos. Las proteínas ejercen una influencia controladora en la textura de los alimentos provenientes de fuentes animales. El análisis para la determinación de proteínas, a pesar de no estar incluido generalmente como factor de clasificación en los estándares de granos se acepta como un factor comercial. A.O.A.C. (1990)

Las proteínas existen en los alimentos en combinación física o química con carbohidratos o lípidos. Las glicoproteínas y las lipoproteínas afectan las propiedades reológicas de las soluciones alimenticias o poseen aplicaciones técnicas como emulsificantes comestibles. El "envejecimiento" de la carne está relacionado con

cambios químicos en las proteínas. Las proteínas naturales puras poseen poco sabor. Durante el proceso de calentamiento (ebullición, panificación, asado) las cadenas laterales de aminoácidos se degradan o interactúan con otros componentes de los alimentos (ejemplo, la lisina con los azúcares reductores) para conferir sabores típicos. El calentamiento excesivo puede, por otro lado, reducir el valor nutritivo.

El analista de alimentos comúnmente desea saber el contenido proteico total de los alimentos, aunque dicho contenido esté conformado por una mezcla compleja de proteínas. Actualmente todos los métodos para determinar el contenido proteico total de los alimentos son de naturaleza empírica. El aislamiento y pesado directo de la proteína proporcionaría un método absoluto, sin embargo, dicho método es llevado a cabo sólo a veces en investigaciones bioquímicas pero es completamente impráctico para el análisis de alimentos.

#### **d) Método Kjeldahl para determinación de Proteína Cruda**

En 1883 el investigador danés Johann Kjeldahl desarrolló el proceso básico del conocido método actual de análisis de proteínas por el método Kjeldahl, más propiamente, para analizar nitrógeno orgánico (A.O.A.C. (1990)). En esta técnica se digieren las proteínas y otros componentes orgánicos de los alimentos en una mezcla con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores. El

nitrógeno orgánico total es convertido en sulfato de amonio. La mezcla digerida se neutraliza con una base y se destila posteriormente en una solución de ácido bórico. Los aniones del borato así formado se titulan con HCl estandarizado, lo cual se convierte en el nitrógeno de la muestra. El resultado del análisis representa el contenido de proteína cruda del alimento ya que el nitrógeno también proviene de componentes no proteicos. Este método ha sufrido varias modificaciones. Así, Kjeldahl usó originalmente permanganato de potasio para llevar a cabo el proceso de oxidación, sin embargo, los resultados no fueron satisfactorios, de manera que este reactivo se descartó. En 1985 Wilforth encontró que se podía acelerar la digestión con ácido sulfúrico añadiendo algunos catalizadores. Gunning en 1989 sugirió la adición de sulfato de potasio para elevar el punto de ebullición de la mezcla de la digestión para acortar la reacción. Por lo tanto, el procedimiento de esta técnica es más correctamente conocido como Método Kjeldahl-Wilforth-Gunning.

#### **e) Análisis Químicos de importancia en la alimentación de vacunos lecheros**

##### **e.1) Materia Seca**

La determinación del contenido en MS de una muestra consiste en provocar la evaporación del agua presente en la misma, con lo que podemos conocer el contenido en MS por simple

gravimetría. Tenemos básicamente dos vías distintas para realizar esta determinación. La primera es la que podemos realizar sólo a nivel de laboratorio y consiste en someter la muestra a un secado en estufa de ventilación forzada a 100°C durante 24 horas, a 105°C durante 16 horas o a 135°C durante 2 horas (AOAC, 1990; Undersander et al., 1993). La segunda vía es la que podemos utilizar a nivel de explotación. En este caso el secado lo podemos realizar provocando la evaporación del agua mediante un microondas. Éste debe ser un aparato con una potencia mínima de 600 vatios. La determinación consiste en usar una balanza electrónica con una precisión de 0.01 g, algún recipiente que pueda introducirse en el microondas para colocar entre 100 y 200 g de muestra, y mantener el proceso durante 3 minutos a la máxima potencia. A continuación se recomienda sacar el contenedor, remover la muestra y reintroducirla de nuevo para reiniciar el proceso, esta vez a la mitad de la potencia y durante un minuto. Seguidamente debemos pesar el contenedor con la muestra. Esta última fase debe repetirse tanta veces como sea necesario, hasta que podamos asegurar que la muestra no pierde más peso, con lo que podremos considerar que el proceso de evaporación ha concluido (Undersander et al., 1993).

## e.2) Proteína

El método Kjeldahl es el método estándar de determinación del contenido en nitrógeno desde finales del siglo XIX. El método consiste básicamente en tres grandes pasos (AOAC, 1990): 1) digestión de la muestra en ácido sulfúrico con un catalizador, hasta convertir todo el nitrógeno a la forma amoniacal; 2) destilación del sulfato amónico en una solución atrapadora; y 3) cuantificación del amoníaco por valoración con una solución estándar. Una vez conocido el contenido en nitrógeno de la muestra, la multiplicación de aquel por el factor de conversión 6,25 nos aproxima al conocimiento del contenido en PC. Existe una alternativa al método Kjeldhal de determinación del nitrógeno que consiste en la combustión en una atmósfera de oxígeno puro y a alta temperatura (950 °C) de la muestra para detectar, por conductividad térmica, el nitrógeno presente en la misma (Undersander et al., 1993).

## 2.2. Antecedentes de investigación.

### 2.2.1 Análisis de Tesis

- a) **Cáceres, E. (2012).** Rendimiento y valor nutricional del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) en tres estados de corte.

El estudio fue realizado en un campo de 1 ha localizado en el Distrito de Majes, Provincia de Caylloma, Departamento de

Arequipa. Dirigido a evaluar el rendimiento y características nutricionales del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) en 3 estados de corte 60, 80 y 100 días. Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con 4 repeticiones y 3 tratamientos (tiempos de corte). Las mediciones incluyeron, análisis químico proximal (MS, PC, EE, CNZ), pared celular (FDN, FDA, LDA), fracciones proteicas ligadas a la fibra (PIDN, PIDA), valor energético ( $EN_L$ ), rendimiento (MV, MS). Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza, utilizando el procedimiento ANOVA del paquete estadístico SAS. Las comparaciones de las medias se realizaron a través de la prueba de Tukey. El valor nutritivo del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) en promedio declinó de 60 a 100 días de crecimiento; vemos que en MS se elevó desde 14.17% (60 días), hasta 20.05% (100 días) observando que existen diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), todos los tratamientos son diferentes entre sí. En PC observamos que disminuyó desde 13.47% (60 días), a 9.90% (100 días), reconociendo que existen diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), todos los tratamientos son diferentes entre sí. En EE tenemos valores de 1.03%, 1.22%, 1.09% (60, 80 y 100 días) respectivamente, observando que no existen diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). En Cenizas tenemos valores de 14.85%, 13.17%, 13.27% respectivamente, observando que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), T1 fue diferente con

respecto a los demás tratamientos, sin embargo no se encontró diferencias entre T2 y T3. En FDN observamos que aumentó desde 67.23% hasta, 70.17% encontrando que existen diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ) además los 3 tratamientos son diferentes entre sí. En FDA vemos un aumento desde 38.65% hasta 40.91% existiendo diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), T3 fue diferente con respecto a los demás tratamientos, sin embargo no se encontró diferencias entre T1 y T2. En LDA observamos un aumento desde 8.50% a 12.63% existiendo diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ) se observó diferencias entre los 3 tratamientos. En PIDN encontramos una disminución de valores entre 8.60% hasta 6.52% observando que existen diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), T1 fue diferente con respecto a los demás tratamientos, sin embargo no se encontró diferencias entre T2 y T3. En PIDA se observó una disminución de 3.35% hasta 2.66% notando que existe diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), T1 fue diferente con respecto a los demás tratamientos, sin embargo no se encontró diferencias entre T2 y T3. En ENL encontramos una disminución desde 0.91 Mcal/KgMs hasta 0.80 Mcal/KgMs, observando que existen diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), T3 fue diferente con respecto a los demás tratamientos, sin embargo no se encontró diferencias entre T1 y T2. En RMV. se observó un aumento desde 93.6 Tm/Ha hasta

403.9 Tm/Ha, encontrando que existen diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), T3 fue diferente con respecto a los demás tratamientos, sin embargo no se encontró diferencias entre T1 y T2. En RMS encontramos un aumento desde 13.4 Tm/Ha hasta 80.2 Tm/Ha, encontrando diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ), se encontró que los 3 tratamientos son diferentes entre sí. En relación al VRF, características nutricionales y rendimiento vemos que T2 es quien muestra un mejor equilibrio, siendo así se recomienda una edad aproximada de corte de 80 días para un mejor aprovechamiento de los animales.

### 2.2.2 Análisis de Trabajos de Investigación.

#### a) Pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*): mitos y realidades. (Correa, 2004)

Recientemente ha sido introducido el pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) en la alimentación de ganado de leche en las zonas frías de Antioquia obteniéndose resultados empíricos muy promisorios. La información que existe sobre el origen, clasificación taxonómica, caracterización agronómica y calidad nutricional de este pasto es, sin embargo, muy fraccionada y confusa. Con la finalidad de tratar de esclarecer la información que existe sobre esta gramínea se adelantaron varios estudios a partir de muestras tomadas de una finca comercial del municipio de San Pedro de los Milagros

(Antioquia) dedicada a la comercialización de semilla vegetativa de este pasto y a su uso en la alimentación de vacas lactantes.

El origen del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) permanece aún confuso pero los estudios preliminares realizados en el Herbario MEDEL de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, indican que puede tratarse de *Pennisetum violaceum* (Lam.) Rich. ex Pers. o de un híbrido (*Pennisetum hybridum*) entre el *Pennisetum americanum* L. y el *Pennisetum purpureum* Schum comercializado en el Brasil como pasto Elefante Paraíso. Se requiere, sin embargo, estudios más detallados para esclarecer su clasificación taxonómica por lo que se sugiere identificarlo de manera genérica como *Pennisetum sp.*

Con la finalidad de caracterizar agronómica y nutricionalmente el pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) (*Pennisetum sp.*) Cultivado en Antioquia, se seleccionaron cuatro parcelas de 7 x 7 metros de la finca comercial del municipio de San Pedro de los Milagros. Dos parcelas fueron fertilizadas con una mezcla de fertilizantes químicos y bovinaza (F) en tanto que las otras dos no recibieron fertilización orgánica (SF). A los 40, 60, 70, 80, 90 y 110 días de rebrote se tomaron cinco plantas al azar dentro de cada parcela en las que se midió el largo y el ancho de las hojas y de los tallos, el ancho de los nudos, la altura y el peso de la planta, el peso de las hojas y de los tallos, la relación hoja: tallo, y el área foliar. Así

mismo, se cosecharon dos metros cuadrados dentro de cada parcela para determinar la producción de biomasa y se tomaron muestras para determinar el contenido de materia seca (MS), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas (Cen), fibra en detergente neutro (FDN), fibra en detergente ácido (FDA), proteína cruda insoluble en el detergente neutro (PCIDN), proteína cruda insoluble en el detergente ácido (PCIDA), y lignina (Lig).

Con base en estos datos se estimó el contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF), nutrientes digestibles totales (NDT) y energía neta de lactancia (ENI). Una porción de las muestras del pasto tomadas a los 70, 90 y 110 días fueron sometidas a una prueba de degradabilidad ruminal *in situ* para estimar la degradabilidad ruminal de la MS y de la PC.

La fertilización y las precipitaciones ocurridas entre el día 90 y 110 de rebrote incrementaron la producción de materia verde y el tamaño de los órganos vegetativos (hojas y tallos) del pasto sin que se afectara su composición química. El contenido promedio de MS (11.95%) y la constancia en su concentración a lo largo del periodo de evaluación, sugiere que se trata de un pasto muy succulento. El alto contenido promedio de PC (20.23% de la MS) y de CNF (21.77% de la MS) así como el bajo contenido de FDN (54.57% de la MS) indicaron que se trata de un pasto de buena calidad nutricional y energética comparable al pasto kikuyo cuando se

evalúa su valor relativo como forraje (VRF). Sin embargo, la composición química y el VRF de este pasto se modificó con la edad: se incrementó el contenido de FDN, FDA y Lig al avanzar la edad de corte y se redujo la concentración de PC, EE y Cen, así como el VRF sin que se modificara significativamente el contenido de CNF. Es así como se estableció un VFR menor en el pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) cosechado a los 80 días (VRF = 96) comparado con el del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) cosechado a los 40 días de rebrote (VRF = 106). Estos cambios en la composición química del pasto condujeron, así mismo, a la disminución en el contenido de NDT y ENI.

La fracción soluble (fracción *a*) (17,32%) y potencialmente degradable (fracción *b*) (57.26%) de la MS fueron menores que las estimadas para el pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). Al contrario, la fracción *a* (32.25%) de la PC del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) fue más alta que la encontrada por otros autores en pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) mientras que la fracción *b* (43.6%) fue más baja. La constante de la cinética de degradación ruminal (*kd*) de la MS fue ligeramente más baja (0.049/h) mientras que la de la PC (0.053/h) fue ligeramente más alta que las reportadas por otros autores para pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*).

Tanto la MS degradada en el rumen (MSDR) (17.32%) como la PC degradable en rumen (PDR) (48.15%) fueron más bajas que los valores reportados para otras forrajeras. Con el avance en la edad de rebrote, se apreció un incremento en la MSDR con la consecuente reducción en la MSNDR en tanto que la PDR mostró una reducción a los 90 días. La relación CNE: PDR del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) se incrementó entre el día 70 y 90 de corte presentando valores muy superiores a los hallados en pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sugiriendo un mayor potencial para la síntesis de proteína microbiana en rumen. Se concluye que el pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) posee una calidad nutricional similar o superior a la del pasto kikuyo y que puede ser utilizada en la alimentación de ganado lechero bajo esquemas de aprovechamiento estratégicos en función de su respuesta a la fertilización, el riego y la edad de corte.

**b) Calidad nutricional del pasto maralfalfa (*Pennisetum sp*) cosechado a dos edades de rebrote. H. J. Correa (2006)**

Con la finalidad de establecer el efecto de la edad de corte sobre el valor nutricional del pasto maralfalfa (*Pennisetum sp*), tres muestras de este pasto fueron recolectadas al azar a los 56 y 105 días de rebrote provenientes de una parcela demostrativa ubicada en el Centro Paysandú de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. En cada una de estas muestras se determinó el

contenido de proteína cruda (PC), proteína insoluble en detergente neutro (PCIDN), proteína insoluble en detergente ácido (PCIDA), fibra en detergente neutro (FDN), lignina (Lig), cenizas (Cen) y extracto etéreo (EE). Por diferencia se estimó el contenido de carbohidratos no estructurales (CNE) y se calculó el contenido de nutrientes digestibles totales (NDT1x) y de energía neta de lactancia (ENI1x). Se determinó, así mismo, el contenido de calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg) y potasio (K) en las muestras recolectadas. Se adelantó una prueba de degradabilidad ruminal de la MS y de la PC, y de la liberación ruminal del Ca, P, Mg y K. Las muestras que se utilizaron en estas determinaciones, se molieron en criba de 1.5 mm, se empacaron en bolsas de nylon de 5 x 10 cm (aproximadamente 3.0 gr/bolsa) y se incubaron durante 0, 2, 6, 12, 24, 48 y 72 horas en el rumen de cuatro vacas Holstein canuladas, utilizando una bolsa para cada tiempo en cada animal.

Al avanzar la edad de corte se redujo la concentración de PC, PCIDN, PCIDA, EE y CNE aunque no se modificó la de Lig, Cen y la de los cuatro minerales. Los NDT1x y la ENI1x se redujeron con la edad de corte pero no modificó los parámetros de cinética de la liberación de los minerales excepto en el caso del Mg. En general, el Ca fue el mineral con menor liberación efectiva en el rumen siendo el K el que presentó el mayor valor para este parámetro.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Materiales

##### 3.1.1 Localización del trabajo

###### a) Localización espacial

El trabajo de campo se realizó en el departamento de Arequipa.

La temperatura promedio de 15.8 °C con una variabilidad de 8.2 °C a 25.6 °C., con una humedad relativa mayor a 27 % y menor a 70% y una precipitación promedio de 78 mm (SENAMHI, 2005).

Las muestras obtenidas serán remitidas al Laboratorio de Investigación en Nutrición y Alimentación Animal de la Universidad Católica de Santa María, localizado en el fundo La Banda - Huasacache, Distrito de Hunter, Provincia de Arequipa, Departamento de Arequipa.

###### b) Localización temporal

El presente trabajo de investigación se realizó entre los meses de Junio y Julio del 2013

##### 3.1.2 Material biológico

- 02 Vacas adultas con fístula ruminal permanente.

- Muestras de Pasto de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*)

### 3.1.3 Material de laboratorio

- Frascos estériles de 100 ml. y 500 ml de vidrio.
- Pipetas de 1 ml y 10 ml.
- Tubos de ensayo.
- Gradilla.
- Mandil.
- Barbijo.
- Beakers.
- Frascos de plásticos de 100 ml.
- Barrillas de vidrio.
- 01 equipo Laptop.
- Cámara digital.
- Memoria USB.

### 3.1.4 Material de campo

- 02 cánulas ruminales ANKOM.
- 200 bolsitas de Dacrón de 05 x 10 cm y 50  $\mu$ m de porosidad.
- Guantes de látex.
- Frascos de 1000 ml estériles.
- Pabilo.
- 01 carrete de nylon.
- Heno de alfalfa.de buena calidad

- Papel toalla

### 3.1.5 Equipos

- Estufa de aire forzado a 55 °C.
- Balanza electrónica, sensibilidad 0.01 gr.
- Equipo Micro-Kjeldahl.
- Balanza analítica, sensibilidad 0.1 mg.
- 01 molino tipo sifón, con mallas de 1.0 mm y 2.0 mm.
- 01 Equipo sellador de bolsas de dacrón.

### 3.1.6 Materiales digitales

- Cámara digital
- Memoria USB

### 3.1.7 Otros materiales

- Fichas para el registro de los animales muestreados.
- Computadora con software Word, Excel y SAS V8.0.
- Cronograma de muestro.
- Unidad de muestreo.

### 3.2. Métodos

#### 3.2.1 Muestreo

##### a) Universo

Se tomó en cuenta como universo el total de plantas de Maralfalfa, en un campo o parcela de 1.5 has, instaladas en la Irrigación de Majes, sección B.

##### b) Tamaño de muestra

Será tomando en cuenta dos aspectos, uno es la necesidad de muestra para el análisis de PC y el otro será la cantidad suficiente para colocar dentro de las bolsitas de dacrón considerando las replicaciones y los tiempos (Razz et al. 2004).

Se utilizaron 02 bolsitas por cada animal para los diferentes tiempos de incubación, dando un total de 04 repeticiones por muestra en cada uno de los tiempos mencionados (Pulido y Leaver, 1999).

##### c) Procedimiento de muestreo

Se realizó un muestreo completamente al azar dentro del campo tomando 03 muestras de este pasto que fueron recolectadas a los 100 y a los 120 días de rebrote (aproximadamente 2.0 kg de materia verde/muestra).

### 3.2.2 Formación de unidades experimentales de estudio

La unidad de estudio, estuvo formada por las muestras de pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) en dos estados de corte, 100 y 120 días de rebrote en época de invierno

Nombre común	Nombre científico	Estado de presentación.	Estado fenológico
Maralfalfa	( <i>Pennisetum sp.</i> )	Fresco	100 días
Maralfalfa	( <i>Pennisetum sp.</i> )	Fresco	120 días

### 3.2.3 Métodos de evaluación

#### a) Metodología de experimentación

##### 1) Metodología para la elección de las unidades de experimentación y su alimentación.

Se utilizaron 02 vacas criollas, sin preñez, en seca, con fístula ruminal permanente y de características homogéneas.

La dieta escogida para los animales utilizados fue según lo recomendado por (Ørskov, et al., 1980), 15 días antes de iniciado el estudio la alimentación de los animales estuvo compuesta por heno de alfalfa (*Medicago sativa*) a voluntad y sales minerales. Las raciones fueron calculadas a orden de permitir un consumo diario de 1.0

vez el nivel de mantenimiento (AFRC, 1993) (Pulido y Leaver, 1999).

## **2) Metodología para la recolección y preparación de las muestras.**

Las muestras fueron recolectadas en la Irrigación de Majes y estuvieron compuestas por dos edades de corte de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) a los 100 y 120 días.

Las muestras recolectadas se pesaron y trasladaron a temperatura ambiente lo más rápidamente posible al laboratorio para realizar los análisis respectivos.

## **3) Procesamiento para el análisis de degradabilidad *in situ* de las muestras.**

Las muestras de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) fueron secadas a una temperatura de 55° centígrados por 48 horas.

Para la incubación de las muestras, se usaron bolsitas de dacrón con un tamaño estándar de 05 cm de ancho por 10 cm de largo y con un tamaño de poro de 50  $\mu\text{m}$ . Cada bolsita fue identificada y se colocó 03 gr de muestra. Todas las bolsitas fueron lavadas, secadas y pesadas antes de cada incubación (Pulido y Leaver, 1999).

Las muestras que se colocaron en las bolsistas, previamente secadas a peso constante en la estufa de aire forzado. Se utilizaron 02 bolsitas por cada animal para los diferentes tiempos de incubación, dando un total de 04 repeticiones por muestra (Pulido y Leaver, 1999).

Los tiempos de incubación fueron de 0, 2, 4, 8, 16, 32, 48 y 72 horas. Se inició con la incubación de las bolsas de mayor tiempo de incubación (72 horas), finalizando con las de 2 horas. Las bolsitas estuvieron atadas a tiras de nylon de 60 cm, donde se colocaron 02 bolsitas en su extremo, permitiendo su libre desplazamiento por el rumen, el otro extremo se fijó en la cánula de fistulación para su rápida remoción (Pulido y Leaver, 1999).

Culminadas las horas de incubación, las bolsitas fueron retiradas del rumen y lavadas con agua corriente hasta que ésta salga clara, aparentemente limpia.

Posteriormente, se secaron en la estufa de aire forzado a una temperatura de 55°C por 48 horas para su posterior análisis de MS y PC (Pulido y Leaver, 1999).

La degradabilidad al tiempo cero (fracción soluble) fue medida con dos muestras, en bolsas colocadas en agua tibia a 38°C por 20 minutos, luego fueron secadas,

pesadas para su posterior análisis de MS y PC (Pulido y Leaver, 1999).

#### **4) Procesamiento para el análisis de proteína cruda de las muestras.**

A estas muestras se les determino proteína cruda (PC) por el método de Micro-Kjeldahl (Ørskov, *et al.*, 1980) el cual determina el contenido de Nitrógeno Total: El valor de NT de una muestra multiplicado por 6.25 es el contenido de proteína cruda (PC), esta incluye tanto el N proteico como el no proteico. Su método consiste en la digestión de las proteínas en ácido y álcali y posterior titulación del amoniaco liberado; método de micro-Kjeldahl descrito por Bateman (1970).

#### **5) Metodología para determinar la curva de degradabilidad de la proteína cruda y materia seca.**

Los porcentajes de degradación de la MS y PC se calcularon mediante la siguiente expresión:

$$\% \text{ Degradabilidad}_{MS/PC} = \frac{(\text{cantidad inicial (g)} - \text{cantidad residual (g)}) * 100}{\text{cantidad inicial (g)}}$$

La degradabilidad de la materia seca y proteína cruda se ajustó por el modelo descrito por Ørskov y McDonald (1979). La curva debe mostrar la degradación de la

muestra en el tiempo; se asume que desaparición es sinónimo de degradación (Ørskov, 1992). Aunque se han informado algunas ecuaciones para describir la curva de degradación ruminal, la primera y más utilizada es la planteada por Ørskov y McDonald (1979).

$$p = a + b (1 - e^{-ct})$$

Dónde:

- p: porcentaje de degradación al tiempo t.
- a: es la fracción soluble o degradable al tiempo 0 (intercepto de la curva con el eje y).
- b: es la fracción insoluble pero potencialmente degradable si el tiempo no es limitante (diferencia entre a y la asíntota de la curva).
- a + b: es el potencial de degradabilidad del material. Todos se expresan en porcentaje.
- c: es la velocidad o tasa de degradación y se expresa en porcentaje por hora.
- e: base de los logaritmos naturales.
- t: tiempo de incubación en el rumen por horas.

## b) Recolección de información

### - En el campo

Observaciones anotadas.

### - En el laboratorio

Mediante el análisis químico e in situ de las muestras.

### - En la biblioteca

- Libros relacionados al tema.
- Revistas científicas especializadas.

### - En otros ambientes generadores de la información científica

- Internet páginas Web relacionadas al tema.
- Eventos científicos relacionados nacionales e internacionales.

## 3.2.4 Variables respuesta

### a) Variables dependientes

- Porcentaje de degradabilidad de la materia seca
- Porcentaje de degradabilidad de la proteína cruda

### b) Variables independientes

- Estados de corte
- Tiempo de incubación de las muestras (hras).

### 3.3 Evaluación Estadística

#### 3.3.1 Diseño experimental

Se ajustaron los valores a la ecuación exponencial propuesta por Ørskov y McDonald, (1979) mediante la función SOLVER© de Excel®. El análisis estadístico consistió en evaluar los datos obtenidos mediante estadística descriptiva que considera medidas de tendencia central (promedios) y variabilidad (coeficiente de variación y desviación estándar) por cada muestra analizada (Calzada, 1970). Para determinar las diferencias entre los tratamientos (estados de corte) se utilizó una prueba de t de dos colas estableciéndose las diferencias estadísticas a un nivel de  $p < 0.05$ . (Zegarra, 2012)

#### 3.3.2 Unidades experimentales

La unidad experimental estuvo constituida por cada una de las muestras de Pasto de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) incubadas en el rúmen de las vacas fistuladas.

#### 3.3.3 Tratamientos

Los tratamientos experimentales fueron los siguientes:

Fuentes de variación	Pasto Maralfalfa ( <i>Pennisetum sp.</i> ) (100 días de corte)	Pasto de Maralfalfa ( <i>Pennisetum sp.</i> ) (120 días de corte)
Tiempo de incubación (horas)	0	0
	2	2
	4	4
	8	8
	16	16
	32	32
	48	48
	72	72

Con cuatro repeticiones o bolsas por cada tiempo de incubación

### 3.3.4 Nivel de significancia

Para determinar diferencias estadísticas entre tratamientos se utilizó una prueba de Tuckey a un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$



#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA NUTRICIONAL DE DOS EDADES DE CORTE DE PASTO MARALFALFA.

**Ilustración 1 Composición química nutricional de Maralfalfa de 120 días.**

FRACCION	COMPOSICION QUIMICA
MATERIA SECA%	25,80
PROTEINA CRUDA%	5,1 %
FIBRA DETERGENTE NEUTRO	75,08%
FIBRA DETERGENTE ACIDO	50,91%

**Ilustración 2 Composición Química nutricional de Maralfalfa de 100 días.**

FRACCION	COMPOSICION QUIMICA
MATERIA SECA%	20,05
PROTEINA CRUDA%	12,8%
FIBRA DETERGENTE NEUTRO	70,18%
FIBRA DETERGENTE ACIDO	40,90%

## 2. DEGRADABILIDAD *IN SITU* DE DOS EDADES DE CORTE DE MARALFALFA (*PENNISETUM SP.*) A LOS 120 Y 100 DIAS.

### A. Materia Seca (MS)

Tabla 1 Degradabilidad promedio (%) de la Materia seca de las dos edades de corte de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) a diferentes tiempos de incubación

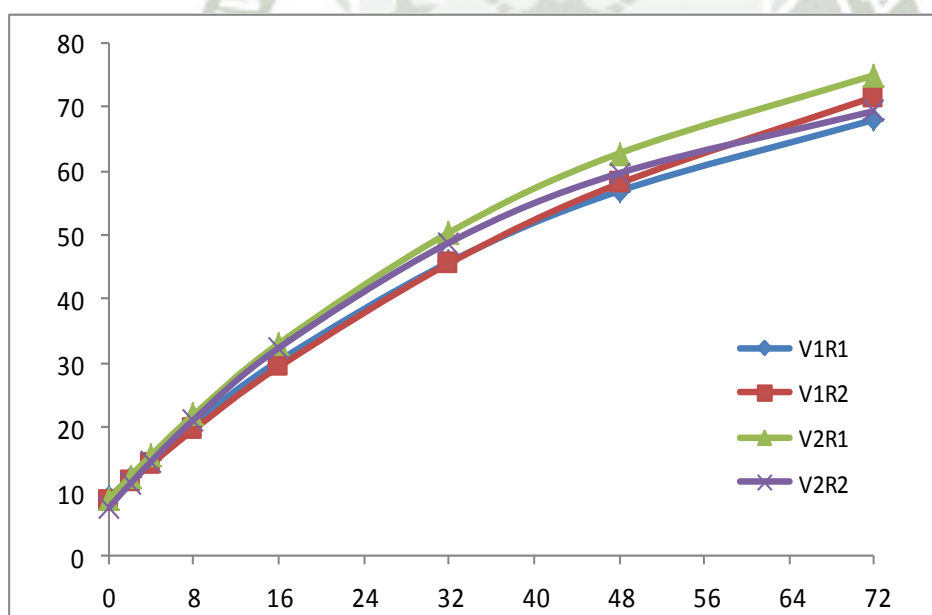
Horas	MARALFALFA 120	MARALFALFA 100
0	11.77 <sup>a</sup>	14.55 <sup>b</sup>
2	12.71 <sup>a</sup>	17.88 <sup>c</sup>
4	14.12 <sup>b</sup>	17.85 <sup>c</sup>
8	16.80 <sup>c</sup>	23.64 <sup>d</sup>
16	28.54 <sup>d</sup>	33.58 <sup>e</sup>
32	49.76 <sup>e</sup>	55.02 <sup>f</sup>
48	63.33 <sup>f</sup>	67.97 <sup>g</sup>
72	68.30 <sup>g</sup>	73.14 <sup>h</sup>

Promedios con letras diferentes en filas o columnas son estadísticamente diferentes a un nivel de  $p < 0.05$

El promedio de degradabilidad de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días y 100 días de corte para el tiempo 0 fue de 11,77%MS y 14,55%MS, el cual fue obtenido sumergiendo la bolsa correspondiente en agua tibia a 38° C por un periodo de 20 minutos. Además se observa que a las 72hrs de incubación se llegó a alcanzar una degradabilidad de 68.30 y 72.82 %MS para 120 y 100 días de corte respectivamente. Hubo diferencias significativas entre los tratamientos para cada tiempo de incubación ( $p < 0.05$ ).

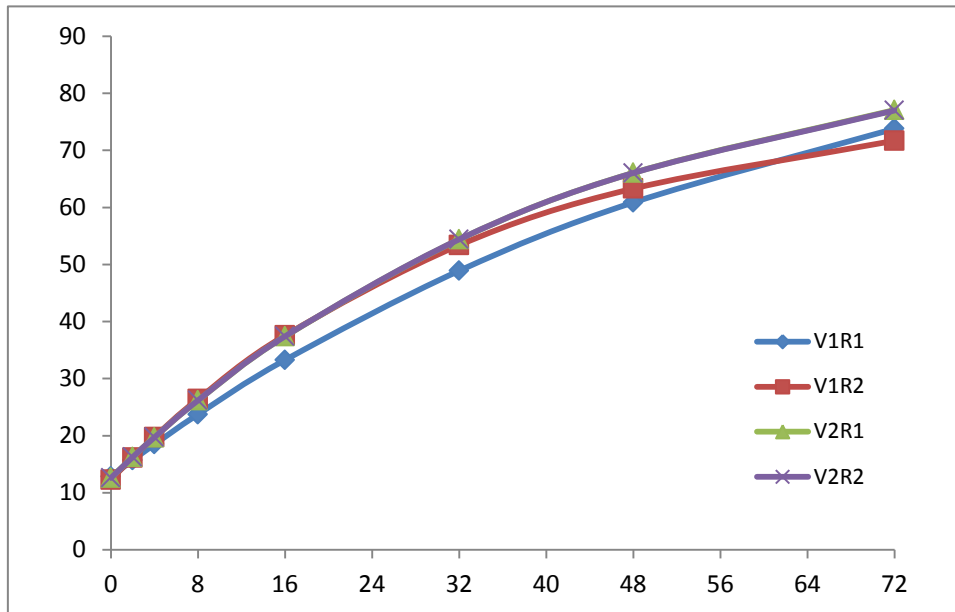
En los gráficos siguientes se pueden observar las curvas de degradabilidad de cada repetición linealizadas por el procedimiento de mínimos cuadrados utilizando la función SOLVER© de Excel®.

**Gráfico 1. Degradabilidad de la Materia seca de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días.**



V1R1: Vaca 1 repetición 1; V1R2: Vaca 2 repetición 2; V1R1: Vaca 2 repetición 1 V1R2: Vaca 2 repetición 2

**Gráfico 2 Degradabilidad de la Materia seca de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 100 días.**



V1R1: Vaca 1 repetición 1; V1R2: Vaca 2 repetición 2; V2R1: Vaca 2 repetición 1 V2R2: Vaca 2 repetición 2

Se realizó un análisis de varianza a los dos factores determinándose que existen diferencias altamente significativas entre los tiempos de incubación  $p < 0.01$ ; encontrándose la igualdad en degradabilidad para Maralfalfa de 120 días entre las 0 y 2 h. En Maralfalfa de 100 días entre las 2 y 4 h. Se encontraron diferencias entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y no existió interacción entre los tiempos de incubación y los tratamientos con un valor de ( $p > 0.05$ ). Correa (2006) en un estudio con Maralfalfa a dos estados de corte (56 y 105 días) encontró un valor de 30 y 20% de degradabilidad de la MS en tiempo 0 para 56 y 105 días respectivamente. Estos valores concuerdan con los reportados aunque solo a los 100 días (14.55%), no habiendo datos para 120 días.

**B. Proteína Cruda (PC).****Tabla 2 Degradabilidad promedio de la Proteína cruda de las dos edades de corte de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) y por cada tiempo de incubación**

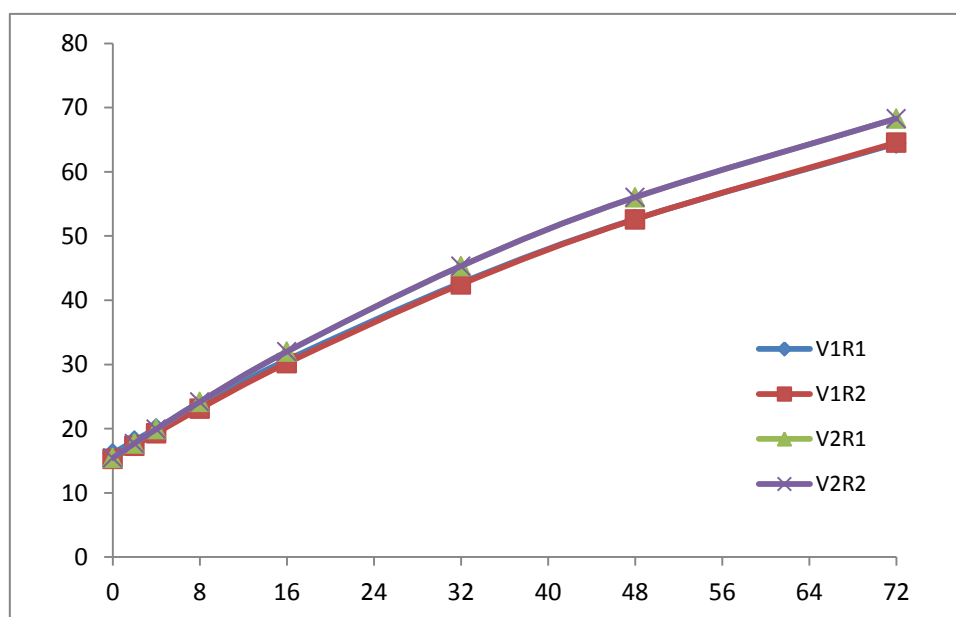
Horas	MARALFALFA 120	MARALFALFA 100
0	15.91 <sup>a</sup>	36.00 <sup>b</sup>
2	17.80 <sup>b</sup>	40.09 <sup>c</sup>
4	20.22 <sup>c</sup>	43.13 <sup>d</sup>
8	23.96 <sup>d</sup>	52.38 <sup>e</sup>
16	28.02 <sup>e</sup>	64.54 <sup>f</sup>
32	45.32 <sup>f</sup>	74.06 <sup>g</sup>
48	56.98 <sup>g</sup>	80.89 <sup>h</sup>
72	61.03 <sup>h</sup>	81.73 <sup>ih</sup>

Promedios con letras diferentes en filas o columnas son estadísticamente diferentes a un nivel de  $p < 0.05$

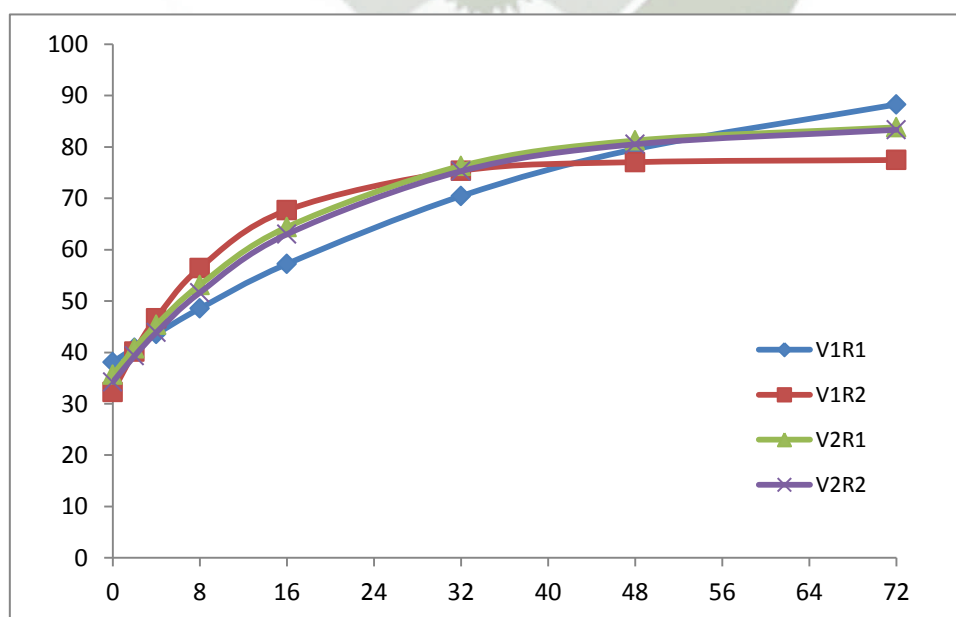
El promedio de degradabilidad de la proteína cruda de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días y 100 días de corte para el tiempo 0 fue de 15.91 y 36.00, al ser sumergidas en agua tibia a 38° C por un periodo de 20 minutos. Además se observa que en las 72hrs de incubación se llegó a alcanzar una degradabilidad de la PC de 61.03 y 81.73 para 120 y 100 días de corte respectivamente

En los gráficos siguientes se pueden observar las curvas de degradabilidad de cada repetición linealizadas por el procedimiento de mínimos cuadrados utilizando la función SOLVER© de Excel®.

**Gráfico 3** Degradabilidad de la Proteína cruda de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) a 120 días.



**Gráfico 4** Degradabilidad de la Proteína cruda de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) a 100 días.



Tras el análisis estadístico se determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tiempos de incubación ( $p < 0.01$ ); encontrándose únicamente la igualdad en Maralfalfa de 100 días entre las 48 y 72 h de incubación.

Igualmente se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.01$ ), para todos los tiempos de incubación. No se encontró interacción entre los tiempos de incubación y los tratamientos con un valor de ( $p > 0.05$ ).

Correa (2006) en su estudio de evaluación del pasto Maralfalfa en Colombia reportó valores de degradabilidad en tiempo 0 a los 56 y 105 días de rebrote de 50 y 45 % respectivamente. Estos valores son muy cercanos a los reportados en el presente trabajo a los 100 días (36 %) no encontrándose valores de referencia a los 120 días de corte. Según la bibliografía (Correa, 2006) podríamos inferir que a mayor edad de corte la fracción soluble en tiempo 0 tiende a ser menor, tal y como ocurrió en el presente estudio.

### **C. Parámetros de Degradabilidad Ruminal.**

Los parámetros de degradabilidad ruminal de la MS de la Maralfalfa a dos edades de corte, fueron determinados y ajustados según el modelo no lineal de Orskov y McDonald (1979) sin tomar en cuenta el tiempo de retraso, debido a que fue considerado no significativo incluirlo en el

modelo según lo recomendado por Mjoun et al; (2010). Todos los parámetros de la cinética de degradación fueron calculados asumiendo una tasa constante de pasaje del alimento de 5% h<sup>-1</sup> (Mustafa et al; 2000).

En los cuadros siguientes podemos observar los parámetros de la cinética de degradación ruminal de la MS.

### 1. Materia Seca (MS)

**Tabla 3** Parámetros de Degradabilidad Ruminal de la Materia Seca a dos edades de corte de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*)

FRACCIONES	MARALFALFA 120 D	MARALFALFA 100 D
A	8.44 <sup>a</sup>	12.59 <sup>b</sup>
B	81.49 <sup>a</sup>	78.09 <sup>a</sup>
T	89.94 <sup>a</sup>	90.68 <sup>a</sup>
Kd (%h)	0.0210 <sup>a</sup>	0.0233 <sup>a</sup>
DE	32.17 <sup>a</sup>	36.92 <sup>b</sup>

A = fracción A = Fracción soluble (%).

B = fracción lentamente degradable (%).

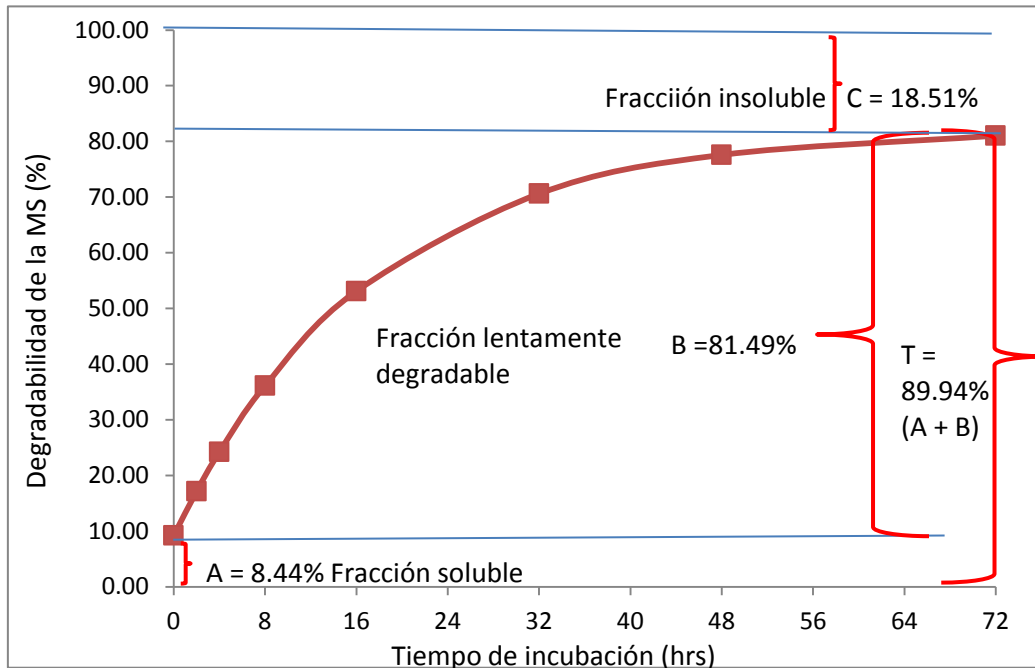
T = A+B, Degradación total o potencial.

Kd = tasa de degradación.

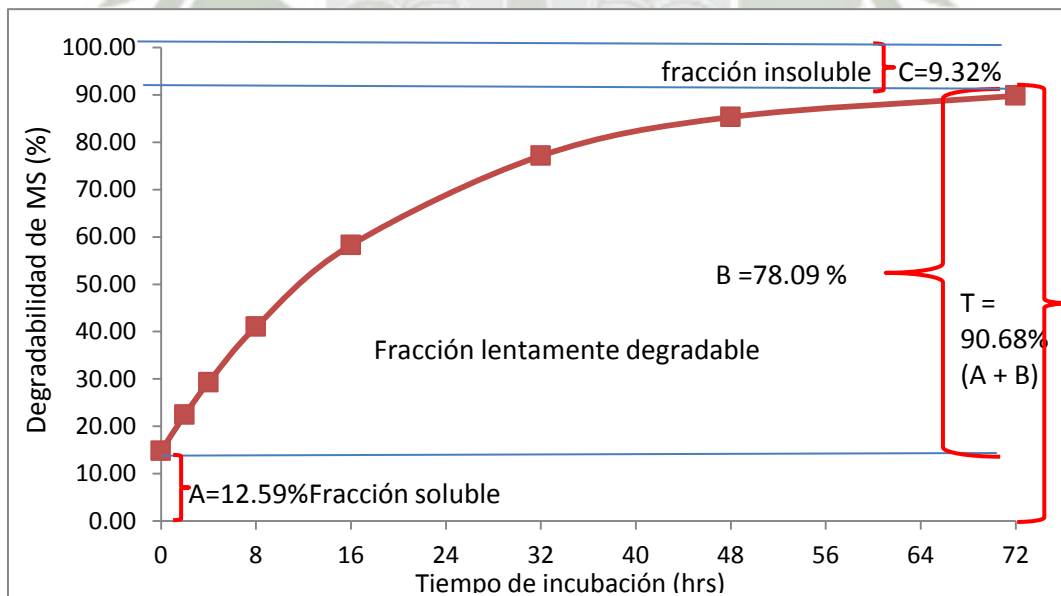
DE = Degradabilidad efectiva (%).

DE =  $a + [(b \times kd) / (kp + kd)]$  donde kp=tasa de pasaje ruminal (5%/h).

**Gráfico 5 Fracciones de la Materia Seca de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días**



**Gráfico 6 Fracciones de la Materia Seca de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 100 días**



En la evaluación de la cinética de degradación ruminal de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días y 100 días se encontró en la fracción soluble 8.44% y 12.59% respectivamente, la cual es rápidamente degradable de manera instantánea en tiempo 0. Del mismo modo se encontró en promedio un 81.49% y 78.09% respectivamente de fracción lentamente degradable en el rúmen, es decir en el periodo de tiempo comprendido entre las 0 y 72 h de permanencia dentro del rumen.

De otro lado se estableció también una tasa promedio de degradación de la MS del alimento de 2.1 %/h y 2.3%/h respectivamente. Finalmente el porcentaje de degradabilidad efectiva (DE) alcanzó un porcentaje de 32.17% y 36.92% respectivamente, durante el periodo de evaluación del estudio. La fracción soluble (a) fue mayor ( $p < 0.05$ ) a los 100 días con respecto a los 120 días, al igual que la DE. Los demás parámetros de degradación fueron iguales ( $p > 0.05$ ) entre ambos estadios de corte no habiendo efecto del tratamiento. Este comportamiento concuerda con lo reportado por Correa et al; 2004 y Correa, 2006 aunque no exactamente con los mismos valores, que fueron mayores a los del presente trabajo. La fracción b, y la tasa de degradación difirieron de las reportadas por Correa, 2006 de manera muy significativa. Esto podría deberse a diferencias en los días de corte y el uso del tiempo de retraso en el cálculo de dichos parámetros.

## 2. Proteína Cruda (PC).

**Tabla 4** Parámetros de Degradabilidad Ruminal de la Proteína Cruda de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de dos edades de corte.

FRACCIONES	MARALFALFA 120 D	MARALFALFA 100 D
A	15.58 <sup>a</sup>	35.06 <sup>b</sup>
B	84.42 <sup>a</sup>	51.60 <sup>b</sup>
T	100.00 <sup>a</sup>	86.66 <sup>b</sup>
Kd (%h)	0.01 <sup>a</sup>	0.06 <sup>b</sup>
DE	32.79 <sup>a</sup>	60.26 <sup>b</sup>
PND	67.21 <sup>a</sup>	39.74 <sup>b</sup>
PNDPD	100.00 <sup>a</sup>	58.95 <sup>b</sup>

A = fracción A= Fracción soluble (%).

B = fracción lentamente degradable (%).

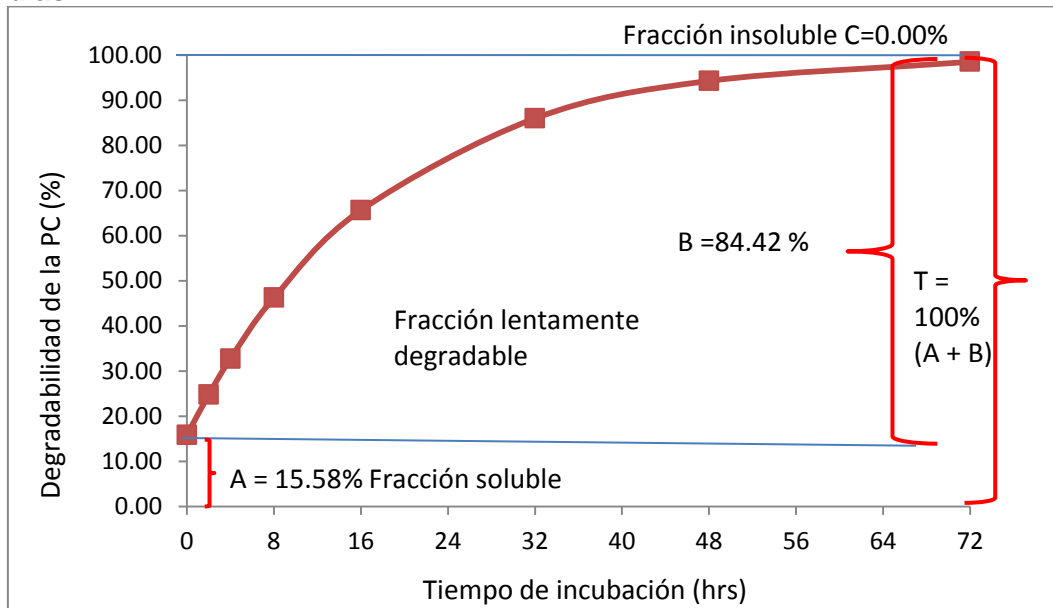
T = A+B, Degradación total o potencial.

Kd = tasa de degradación.

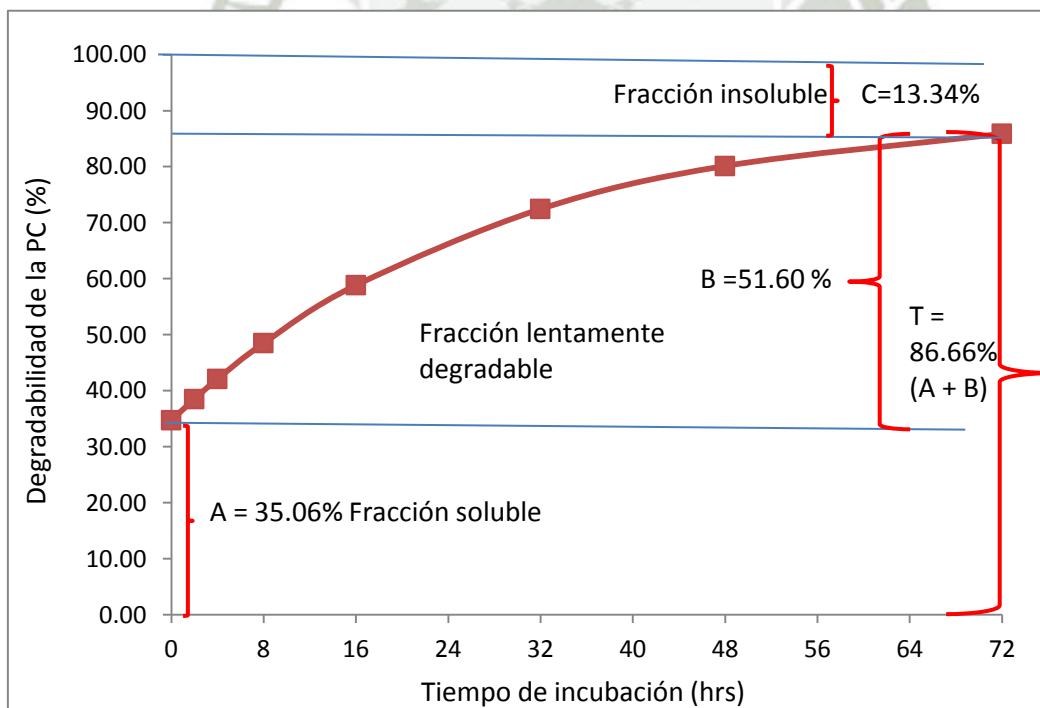
DE = Degradabilidad efectiva (%).

DE =  $a + [(b \times kd) / (kp + kd)]$  donde  $kp$  = tasa de pasaje ruminal (0.5%/h).

**Grafico 7 Fracciones de la Proteína cruda de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días**



**Grafico 8 Fracciones de la Proteína cruda de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 100 días**



En la evaluación de la cinética de degradación ruminal de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días y 100 días se encontró en la fracción soluble 15.58% y 35.06% respectivamente, fracción rápidamente degradable de manera instantánea es decir en tiempo 0. Del mismo modo se encontró en promedio un 84.42% y 51.60% respectivamente de fracción lentamente degradable en el rúmen, es decir en el periodo de tiempo comprendido entre las 0 y 72 h de permanencia dentro del rumen.

De otro lado se estableció también una tasa promedio de degradación de la PC del alimento de 1,0 %/h y 6.0%/h respectivamente. Finalmente el porcentaje de degradabilidad efectiva (DE) alcanzó un porcentaje de 32.79% y 60.26% respectivamente durante el periodo de evaluación del estudio. La fracción de PNDR fue de 67.21 y 39.74 % de la PC respectivamente

Se determinó además una fracción potencialmente degradable total de 100 y 58.95 % respectivamente, pudieron ser degradadas a nivel ruminal durante el periodo de incubación establecido en el estudio. Todos los parámetros de degradabilidad ruminal de la PC difirieron entre tratamientos ( $p < 0.05$ ). Correa, (2006) reportó valores para 105 días cercanos a los encontrados en el presente estudio, como fracción (a) de 46.0 %, fracción (b) de 36.8%, tasa de degradación (kd) de 11.6 %/h, PDR de 67.9 % y PNDR de 32.1 %. En términos generales la PC de la Maralfalfa tiende a bajar su degradación conforme se incrementa el estado fenológico de la misma.

## V. CONCLUSIONES

1. El promedio de degradabilidad de la MS de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días y 100 días de corte para el tiempo 0 fue de 11,77 y 14,55 %. Hasta las 72 hrs de incubación se llegó a alcanzar una degradabilidad de 68.30 y 72.82 % para 120 y 100 días de corte respectivamente. Se encontraron diferencias altamente significativas entre los tiempos de incubación ( $p < 0.01$ ). Se encontraron diferencias entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ) y no existió interacción entre los tiempos de incubación y los tratamientos con un valor de ( $p > 0.05$ ).
2. El promedio de degradabilidad de la PC de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) de 120 días y 100 días de corte para el tiempo 0 fue de 15.91 y 36.00%. Se observó que en las 72hrs de incubación se llegó a alcanzar una degradabilidad de la PC de 61.03 y 81.73 para 120 y 100 días de corte respectivamente. Se determinó que existen diferencias altamente significativas entre los tiempos de incubación ( $p < 0.01$ ). Igualmente se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos ( $p < 0.01$ ), para todos los tiempos de incubación. No se encontró interacción entre los tiempos de incubación y los tratamientos con un valor de ( $p > 0.05$ ).
3. En la evaluación de la cinética de degradación ruminal de la MS a 120 y 100 días se encontró una fracción soluble de 8.44% y 12.59% respectivamente. Del mismo modo se encontró en promedio un 81.49% y 78.09% respectivamente de fracción lentamente degradable en el rúmen. De otro lado se estableció también una tasa promedio de degradación de la MS del

alimento de 2.1 %/h y 2.3%/h respectivamente. Finalmente la degradabilidad efectiva (DEMS) alcanzo un porcentaje de 32.17% y 36.92% respectivamente. La fracción soluble (a) fue mayor ( $p < 0.05$ ) a los 100 días con respecto a los 120 días, al igual que la DE. Los demás parámetros de degradación fueron iguales ( $p > 0.05$ ) entre ambos estadios de corte no habiendo efecto del tratamiento.

4. En la evaluación de la cinética de degradación ruminal de la PC a 120 y 100 días, se encontró en la fracción soluble de 15.58% y 35.06% respectivamente. Del mismo modo se encontró en promedio un 84.42% y 51.60% respectivamente de fracción lentamente degradable en el rúmen. De otro lado se estableció también una tasa promedio de degradación de la PC del alimento de 1,0 %/h y 6.0%/h respectivamente. Finalmente el porcentaje de degradabilidad efectiva (DE) alcanzo un porcentaje de 32.79% y 60.26% respectivamente. La fracción de PNDR fue de 67.21 y 39.74 % de la PC respectivamente. Se determinó además una fracción potencialmente degradable total de 100 y 58.95 % respectivamente, pudieron ser degradadas a nivel ruminal durante el periodo de incubación establecido en el estudio. Todos los parámetros de degradabilidad ruminal de la PC difirieron entre tratamientos ( $p < 0.05$ ).

## VI. RECOMENDACIONES

1. En función a los resultados del estudio se recomienda evaluar los niveles de degradabilidad ruminal en estados fenológicos más tempranos, dado el alto contenido de FDN hallado en la evaluación nutricional, lo cual limita el consumo de este forraje junto con su bajo nivel de energía.
2. Considerar los bajos niveles de proteína a los 120 días de corte, para no superar los 60 y garantizar una mayor calidad de la oferta forrajera en especial para las categorías de mayores demandas nutricionales.
3. Continuar realizando estudios complementarios como degradabilidad de la FDN y FDA para analizar los factores de degradación de los carbohidratos fibrosos como celulosa y hemicelulosa.
4. Utilizar este pasto en estados fenológicos tempranos donde la degradación y utilización de los nutrientes de este pasto son más eficientes y de mayor valor nutricional.

## VII BIBLIOGRAFÍA

1. **AFRC. 1992.** Agricultural and Food Research Council: Technical Committee on Responses to Nutrients: Nutritive Requirements of Ruminant Animal Protein. Nutr. Abs. Rev.; 68:65-71.
2. **Akin, D. E. y Benner, R. 1988.** Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. Appl. Environ. Microbiol. 54: 1117-1125.
3. **Akin, D.E. 1986.** Interaction of ruminal bacteria and fungi with southern forages. J. Anim. Sci. 3:962-965.
4. **Akin, D.E. 1989.** Histological and physical factors affecting digestibility of forages. Agron. J. 81: 17-25.
5. **Akin, D.E. 1994.** Ultrastructure of plant cell wall degraded by anaerobic fungi. In: Anaerobic Fungi. Mount- Fort, D.O. y Opin, C.G. (Eds.). Marcel Dekker Inc. New York. pp.169.
6. **Akin, D.E. 1994.** Ultrastructure of plant cell wall degraded by anaerobic fungi. In: Anaerobic Fungi. Mount- Fort, D.O. y Opin, C.G. (Eds.). Marcel Dekker Inc. New York. pp.169.
7. **Akin, D.E. y Borneman, W.S. 1990.** Role of rumen fungi in fiber degradation. J.Dairy Sci. 73:3023-3032.
8. **Aldana C. 1990.** Productividad y rentabilidad en sistemas de producción bovina en Colombia. Coyuntura Agropecuaria, Vol. 7, No.2, segundo trimestre. 81 - 103.

9. **Anónimo. 2004.** Fisiología del rumen. Disponible en: <[www.homestead.com/bonavet/files/digestivo14.html](http://www.homestead.com/bonavet/files/digestivo14.html). > Consultado:[10 de julio 2013].
10. **AOAC. 1990.** Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. AOAC. 15<sup>th</sup> ed. Edited by Kenneth Helrich. Arlington, Virginia. 1117 pp.
11. **Barthes, P. 1992.** Role, transformations et devenir des lignines en melieu ruminal.
12. **Bauchop, T. 1989.** Colonization of plant fragments by protozoa and fungi. En: The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. J.V. Nolan, R.A. Leng, D.I. Demeyer (Eds.). Penambul Books, Armidale. 83-96.
13. **Bayer, E.A., Chanzy, H., Lamed, R. y Shoham, Y. 1998.** Cellulose, cellulases and cellulosomes. Current Opinion in Structural Biology. 8:548-557.
14. **Belzecki, G. y Michalowski, T. 2004.** The role of the ciliate Eudiplodinium maggii in starch digestion in the rumen. Reproduction Nutrition Development. 42:78- 80.
15. **Bernal R.J. 1979.** Sistema Químico Biológico. Revista ESSO Agrícola No. 2, abril - junio: 28-34.
16. **Bernal R.J. 1979.** Sistema Químico Biológico. Revista ESSO Agrícola No. 2, abril - junio: 28-34.

17. **Bernalier, A., Fonty, G., Bonnemoy, F. y Gouet, P. 1992.** Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria. *Curr. Microbiol.* 25 : 143-148.
18. **Betancur JF. 2004.** Comparación de dos procedimientos matemáticos para estimar la degradabilidad efectiva en rumen. Trabajo de Pasantía. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Carrera de Zootecnia. 20 p.
19. **Blaxter, K, L. 1986.** An historical perspective: the development of methods for assessing nutrient requirements. *Proceedings of the Nutrition Society*, 45: 177-183, 1986.
20. **Bohatier, J., Sénaud, J. y Benyahya, M. 1990.** In situ degradation of cellulose fibres by the entodiniomorph rumen ciliate *Polyplastron multivesiculatum*. *Protoplasma.* 154: 122-131.
21. **Borneman, W. S. y Akin, D.E. 1990.** Lignocellulose degradation by rumen fungi and bacteria: ultrastructure and cell wall degrading enzymes. En: *Microbial and plant opportunities to improve lignocellulose utilization by ruminants.* D. E.
22. **Cáceres, E. 2012.** Rendimiento y valor nutricional del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) en tres estados de corte en la Irrigación Majes, Arequipa, 2012. Tesis para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad Católica de Santa María Arequipa.
23. **Cáceres, E. y Zegarra, J. 2012.** Rendimiento y valor nutricional del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) en tres estados de corte en la Irrigación Majes,

- Arequipa, Perú. En: Memorias del XXIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Cartagena de Indias Colombia.
24. **Calsamiglia S. 1997.** Nuevas bases para la utilización de la fibra en dietas de rumiantes. En: XIII curso de especialización FEDNA, Madrid, 6 y 7 de Noviembre. 16 p.
25. **Calsamiglia, S. y Navarro, H. A. 2005.** Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva: acidosis y meteorismo. Disponible en< [http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2002CAP\\_VI.pdf](http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2002CAP_VI.pdf)> consultado:[29 mayo 2013].
26. **Calsamiglia, S. y Stern, M. D. 1995.** A three-step in vitro procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. J. Anim. Sci., 73: 1459-1465, 1995.
27. **Calzada, J. 1970.** Métodos Estadísticos para la Investigación. Editorial Jurídica. Lima – Perú.
28. **Capanema, E.A., Balakshin,M.Y. y Dadla,J.F. 2005.** A comprehensive approach for quantitative Lignin characterization by NMR Spectroscopy .J. Agric. Food Chem. 52: 1850- 1860.
29. **Carpita, N.C. y Gibeaut, D.M. 1998.** Biosynthesis and secretion of plant cell wall polysaccharides. Current topics in Plant Biochemistry and Physiology. 7: 12- 23.
30. **Carulla J, Cárdenas E, Sánchez N, y Riveros C. 2004.** Valor nutricional de los forrajes más usados en los sistemas de producción lechera especializada de la zona andina colombiana. En: memorias Seminario

- Nacional de Lechería Especializada: Bases Nutricionales y su Impacto en la Productividad. Eventos y Asesorías Agropecuarias, Auditorio de la Salud, Hospital General de Medellín, Septiembre 1 y 2: 21 – 40.
31. **Carulla J, Cárdenas E, Sánchez N, y Riveros C. 2004.** Valor nutricional de los forrajes más usados en los sistemas de producción lechera especializada de la zona andina colombiana. En: memorias Seminario Nacional de Lechería Especializada: Bases Nutricionales y su Impacto en la Productividad. Eventos y Asesorías Agropecuarias, Auditorio de la Salud, Hospital General de Medellín, Septiembre 1 y 2: 21 – 40.
32. **Chaucheyras, F. y Fonty, G. 2001.** Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *S. cerevisiae* CNCM I-1077. *Reprod Nutr Dev.* 41: 57-68.
33. **Chen, X. B. y Gómez, M. J. 1995.** Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives. An overview of the technical details. International Feed Resources Unit, Rowett Research Institute. Occasional Publication 192 (Edited and reprinted September 1995), 1995.
34. **Chen, X. B., Ørskov, E. R. y Hovell, F. D. 1990.** Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, difference between cattle and sheep. *British Journal of Nutrition*, 63: 121-129, 1990.

35. **Cherney, D.I.R. 2000.** Characterization of forages by chemical analysis. En: Forage evaluation in Ruminant Nutrition. Givens, D.J.,Owen, E, Axford, R.E.F.(Eds.) CAB International.UK. pp500.
36. **Chesson, A y Forsberg, C.W. 1997.** Polysaccharide degradation by rumen microorganism. En: Hobson, P.N. and Stewart, C.S.(Eds.) The rumen Microbial ecosystem. Londres. Brackie Academy Proffessional. pp. 329.
37. **Consejo Regional de la Cadena Láctea. 2001.** Acuerdo de competitividad de la cadena láctea en Antioquia. 29 pg.
38. **Correa H J, Ceron J M, Arroyave H, Henao Y y López, B. 2004.** Pasto Maralfalfa: mitos y realidades. En: IV Seminario internacional Competitividad en carne y leche. Cooperativa Colanta, Hotel Intercontinental de Medellín, Noviembre 10 y 11: 231 - 274.
39. **Correa H.J. 2006.** Calidad nutricional del pasto Maralfalfa (*Pennisetum sp*) cosechado a dos edades de rebrote. Livestock Research for Rural Development 18 (6) 2006
40. **Correa H.J. (En publicación).** Origin and comprehensive study of Thünen's model to analyze data from *in situ* rumen degradability technique. Rev. Col. Cienc. Pec.
41. **Correa H. J. y Cuellar A.E. 2004.** Aspecto clave del ciclo de la urea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. Rev Col Cienc Pec 2004; 17: 29 – 38.
42. **Cuartas CA y Naranjo JF. 2004.** Comparación de algunos modelos matemáticos para la caracterización de la cinética de degradación ruminal

- de algunos recursos forrajeros. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 32 p.
43. **Czerkawski, J. W. y Breckenridge, G. 1977.** Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). Br. J. Nutr., 38: 371- 383, 1977.
44. **Danelón, J.L. 2001.** Comprendiendo a los carbohidratos. Disponible en: <[www.portalveterinaria.com/sections.view.article.artid65](http://www.portalveterinaria.com/sections.view.article.artid65)> Consultado:[3 julio 2013]
45. **Dawson J.E y Hatch ST. 2002.** A World Wide Web key to the grass genera of Texas. S.M. Tracy Herbarium, Department of Rangeland Ecology and Management, Texas A&M University. URL: <http://www.csd.tamu.edu/FLORA/taes/tracy/610/index.html>
46. **De Arriba, J. 1988.** Fisiología y Bioquímica de la digestión en el rumiante. Editorial Oriente, Santiago de Cuba. pp.35-77.
47. **Dehority, B.A. 1990.** Rumen ciliate protozoa in Ohio whitw-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). J. of Protozoology. 37: 473-475.
48. **Dehority, B.A. y Tirabasso, P.A. 1998.** Effect of ruminal cellulolytic bacterial concentrations on in situ digestion of forage cellulose. J. of Animal Sci. 76:2905-2911.
49. **Demarquilly, C. y Chenost, M. 1969.** Etude de la digestion des fourrages dans le rumen par le méthode des sachets de nylon: liaisons avec le valeur alimentaire. Ann. Zootech., 18: 419-436, 1969.

50. **Dos Reis, S.T. 2006** Fraccionamiento y degradabilidad ruminal de proteína de forrajes del género *Cynodon*. Tesis presentada para la obtención al grado de Doctor en Ciencia Animal. Universidad de Lavras. Minas Gerais. Brasil. 124pp.
51. **Erwin, E. S. y Ellison, N. G. 1959.** Rapid method of determining digestibility concentrates and roughages in cattle. *J. Anim. Sci.*, 18: 1518. (Abstract), 1959.
52. **Espinal, S. 1991.** Apuntes ecológicos. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias. 152 p.
53. **Federación Colombiana de Ganaderos. 2002.** La ganadería bovina en Colombia, 2000 – 2001. FEDEGAN, Bogotá. 245 p.
54. **Flatt, W. P. 1988.** Feed evaluation Systems: Historical Background. *World Animal Science. Disciplinary Approach B4.* (Edited by E. R. Ørskov). Elsevier Science Publishers. pp. 1-22. 1988.
55. **Fondevila M. 1998.** Procesos implicados en la digestión microbiana de los forrajes de baja calidad. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 15:87-106.
56. **Fondevilla, M y Dehority, B.A. 1996.** Interaction between *Fibrobacter succinogenes*, *Provetella ruminicola* and *Ruminococcus flavefaciens* in the digestion of cellulose from forages. *J. of Animal Sci.* 74: 678-684.
57. **Fonty, G. 1991.** The rumen anaerobic fungi. En: *Rumen microbial metabolism and Ruminant digestion.* Jouany, J.P. (Ed.) INRA. Paris pp. 53 - 70.

58. **Forano, E. y Bera, C. 2003.** Fibre degrading enzymes, their origin and diversity. Conference of Rumen microbial ecosystem Symposium. Disponible en <[http://www.rkm.com.au/cell/plant/plant\\_cell\\_membrane.html](http://www.rkm.com.au/cell/plant/plant_cell_membrane.html)> Consultado: [1 julio 2013].
59. **Forsberg C.W., Forano E. y Chesson A. 2000.** Microbial adherence to the plant cell and enzymatic hydrolysis. En: Ruminal Physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction. Cronjé, P.B. (Ed.). CABI Publishing. Wallingford. UK pp.79-97.
60. **Gaitán S y Pabón J.D. 2003.** Aplicación del modelo NRC 2001 en la caracterización energética y proteica de los pastos kikuyo (*Pennisetum clandestinum*, *hochst*), ryegras (*Lolium perenne*) y falsa poa (*Holcus lanatus*,) en un hato lechero del oriente antioqueño. Trabajo de grado, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Animal. 55 p.
61. **Gallardo, M. 2007.** Dietas Balanceadas con Forrajes Conservados: la Importancia de Diagnosticar la Calidad Nutricional, El valor de los alimentos. Estación Experimental Agropecuaria, INTA Rafaela, Argentina.
62. **Gong, J. y Forsberg, C.W. 1989.** Factors affecting adhesion of Fibrobacter succinogenes subsp. succinogenes S85 and adherence-defective mutants to cellulose. Appl. Environ. Microbiol. 55: 3039-3044.
63. **González, A.M. 2005.** Morfología de las plantas vasculares. Subestructura de la pared celular. Conferencia de Curso de Botánica Morfológica.

Disponible en:<[http://www. Biología.edu.ar//botánica/7.3 pared celular.htm](http://www.Biología.edu.ar//botánica/7.3_pared_cellular.htm)> Consultado:[5 julio 2013].

64. **Gordon, G.L.R. y Phillips, M.W. 1995.** New approach for the manipulation of anaerobic fungi in rumen. En: Recent advances in Animal Nutrition in Australia. University of New England. Armidale .Australia.pp. 108-114.
65. **Govea, R. 2006.** Efecto del azufre sobre la digestibilidad in vitro de la celulosa por hongos ruminales de caprinos. Tesis presentada en opción al título de Master en Bioquímica. Universidad de Colima. México.100 pp.
66. **Grabber, J.H. 2005.** How Do Lignin Composition, Structure, and Cross-Linking Affect Degradability? A Review of Cell Wall Model Studies. Crop Sci 45:820-831.
67. **Gutiérrez, L. C. 2006.** Efecto del azufre sobre la digestibilidad in situ de un alimento en base a fibra y su relación sobre los microorganismos del rumen. Tesis presentada en opción al grado de doctor en Ciencias Biotecnológicas. Universidad de Colima. Tocuemen. Mexico.100 pp.
68. **Häfliger E. y Scholz H. 1980.** Grass weeds 1: weeds of the subfamily Panicoideae. CIBA-Geigy Limited, Basle.
69. **Hanna W.W, Gaines TP, Gonzales B y Monson WG. 1984.** Effects of ploid on yield and quality of pearl millet x napiergrass hybrids. Agron. J. 76.669-971.
70. **Hartley, R.D y Ford, C.W. 1999.** Phenolic constituents of plant cell walls and wall biodegradability. En: Plant cell wall polymers. Lewis, N.G., Paice, M.G.

- (Eds.) American Chemical Society. Washington DC. pp.564. American Chemical Society. pp137.145.
71. **Hatfield, R.D. y Ralph, J. (Eds.)**. ASA-CSSA-SSSA, Madison. pp. 397-423.
72. **Hespell, R.B., Akin, D.E. y Dehority, B.A. 1997**. Bacteria, fungi and protozoa of rumen. En: Gastrointestinal Microbiology. Mackie, R.I., White, B.A. and Isaacson, R. (Eds.). Chapman and Hall. New York. pp.59-186.
73. **Ho, Y.W. y Barr, D.J.S. 1997**. Classification of anaerobic gut fungi from herbívoros
74. **Hungate, R.E. 1988**. The ruminant and the rumen. En: The rumen microbial ecosystem. Hobson, P.N. (ed.). Elsevier Applied Science, London and New York. pp.1-19.
75. **Jones, D. I. H. y Hayward, M. Y. 1975**. The effects of pepsin pre-treatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solution. J. Sci. Food Agric., 26: 711-718, 1975. Rev. prod. anim. Vol 13 No. 1 2001 5 0.
76. **Jouany, J. P. y Ushida, K. 1994**. Plant cell-wall degradation by rumen protozoa. En: Microorganisms in ruminant nutrition. R.A. Prins y C.S. Stewart (Eds.),
77. **Jouany, J.P. 1996**. Effect of rumen protozoa utilization by ruminants. J of Nutr. 126:1335-1346..
78. **Kiviste A, Álvarez JG, Rojo A, y Ruiz AD. 2002**. Funciones de crecimiento de aplicación en el ámbito forestal. INIA. Madrid, España.

79. **Kiviste A, Álvarez J.G, Rojo A, y Ruiz AD. 2002.** Funciones de crecimiento de aplicación en el ámbito forestal. INIA. Madrid, España.
80. **Koike, S. y Kobayashi, Y. 2001.** Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flavefaciens*. FEMS. Microbiology. Letters. 204: 361-366.
81. **Kondo, T. 2000.** Chemical and Physical studies on characteristics of forage lignins. Bulletin No.85 of the Tohoku National Agricultural Experiment Station. Morioka, Japan. pp12.
82. **Krause, D.O., Dalrymple, B.P., Smith, W.J., Mackie, R.I. y McSweeney, C.S. 1999.** 16 S DNA sequencing of *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flaveciens*: design of a signature probe and its application in adult sheep. Microbiology. 145:1797-1807.
83. **Lapierre, C. 1993.** Application of new methods for the investigation of lignin structure. En: Forage cell wall and digestibility. Jung, H.G., Buxton, D.R., Hatfield, R.D. (Eds.). Madison. American Society for Agronomy. pp 133-163.
84. **Latham, M.J., Brooker, B.E., Pettipher, G.L. y Harris, P.J. 1978.** *Ruminococcus flavefaciens* cell coat and adhesion to cotton cellulose and to cell walls in leaves of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). Appl. Environ. Microbiol. 35: 156-165.
85. **León L. 1994.** Evaluación de la fertilidad del suelo. En: Seminario sobre fertilidad del suelo y su potencial productivo. Soc. Col. Cienc Suelo, Comité regional del Valle del Cauca. Palimra, 15 al 17 de nov.:51 – 60.

86. **Lira MA; Dubeux JCB; Oliveira CF. 1998.** Competição de cultivares de capimelefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e de seus híbridos com milho (*P. americanum*, (L.) Leake), sob pastejo. In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia,
87. **Macoon E, Sollenberger L, y Moore J.E. 1992.** Defoliation Effects on Persistence and Productivity of Four *Pennisetum* spp. Genotypes. *Agron. J.* 94:541–548
88. **Macoon E. 1992.** Defoliation effects on yield, persistence and a quality – related characteristics of four *Pennisetum* forage genotypes. M.S. thesis. Univ. of Florida.
89. **Mayes, R. W. 1993.** Estimation of dietary proportions of different plant species using n-alkanes. Seminar. Rowett Research Institute. Aberdeen, UK, 1993.
90. **McAllister, T.A., Bae, H.D., Jones, G.A. y Cheng, K. J. 1994.** Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci.* 72: 3004-3018.
91. **Mehrez, A. Z. y Ørskov, E. R. 1977.** A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci.*, 88: 645-650, 1977.
92. **Mendoza P. 1980.** Fertilización de praderas en Colombia. En: Pastos y Forrajes para Colombia, Instituto Colombiano Agropecuario y Banco Ganadero. 19 – 30.

93. **Menke, K. H. y Steingass, H.1988.** Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. Vol. 28, pp. 7-55, 1988.
94. **Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. y Schneider, W. 1979.** The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J. agric. Sci.*, 93: 217-222, 1979.
95. **Meuser, F. Manners, D.J.y Seibel y W.1992.** Polymeric carbohydrates. The proceedings of International symposium of plant polymeric carbohydrates. Berlin, Germany. Cambridge. The Royal Society of Chemistry. pp.5.
96. **Michalet-Doreau, B. y Ould-Bah, M. Y. 1992.** In vitro and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. *Animal Science and Technology*, 40: 57-86, 1992.
97. **Michalet-Doreau, B., Fernández, I.y Fonty, G. 2002.** A comparison of enzymatic and molecular approaches to characterize the cellulolytic microbial ecosystem of the rumen and the cecum. *J. Anim. Sci.* 80:790-796.
98. **Michalowski, T., Rybicka, K., Wereszka, K. y Kasperowicz, A. 2001.** Ability of the rumen ciliate *Epidinium ecaudatum* to digest and use crystalline cellulose and xylan for in vitro growth. *Acta protozoologica*. 40: 203-211.
99. **Miramontes, J.M. 2005.** Efecto de la proporción concentrado: forraje sobre la población de bacterias utilizadoras de hidrógeno en el rumen. Tesis presentada en opción al grado de doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de Colima. Tocumen. Colima, México.126 pp.

100. **Montalbetti, A. 2004.** Microbiología del rumen. Disponible en: <[www.monografias.com/trabajos7/rumen/rumen.shtml#hon.](http://www.monografias.com/trabajos7/rumen/rumen.shtml#hon.)>. Consultado [28 de mayo de 2013.]
101. **Montoya C. y Quijano J.H. 2000.** Comparación productiva de vacas holstein y F1 blanco orejinegro (BON) x holstein. 1. Producción y calidad de la leche. Rev. Fac. Nal. de Agron. Med. 53: 1115 – 1128.
102. **Montoya N.F, Pino I.D, y Correa H.J. (En publicación).** Evaluación de la suplementación con papa (*Solanum tuberosum*) a vacas holstein lactantes. Rev. Col. Cienc. Pec.
103. **Naranjo H. 2002.** Evaluación nutricional del pasto kikuyo a diferentes edades de corte. Despertar Lechero, (20): 150- 167.
104. **Nava, C. y Díaz, A. 2003.** Introducción a la digestión ruminal. Disponible en [http://www.veterin.unam.mx/enlinea/ruminal/digest\\_ruminal.htm](http://www.veterin.unam.mx/enlinea/ruminal/digest_ruminal.htm) Consultado: [2 julio 2013].
105. **Nguyen, T.H.N., Nguyen, V.H., Nguyen, T.N., Nguyen, T.V., Preston, T.R. y Leng, R.A. 2001.** Practical application of defaunation of cattle on farms in Vietnam: response of young cattle fed rice straw and grass to a single drench of groundnut oil. Australia J. Anim. Sci. 14: 485-490.
106. **Noguera, J.R. 2004.** Estudio químico in situ, in vitro y microscópico de las paredes celulares de cinco genotipos de sorgo en tres épocas de corte. Tesis presentada como requisito para la obtención del grado de Doctor en Ciencia Animal. Universidad Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. Brasil. 150 pp.

107. **Northcote, D.H. 1999.** Control and plant Biogenesis. En: Plant Cell wall polymers. Biogenesis and biodegradation. Lewis, N.G., Paice, M.G. (Eds.) American Chemical Society. Washington DC. pp.350. Nottingham University Press. Nottingham. pp. 69-78.
108. **Ohara, H., Karita, S., Kimura,T., Sakka,K. y Ohmiya,K.1998.** Multicellulase complex of Ruminococcus albus F40. Proceedings of the MIE Bioforum. Genetics, Biochemistry and Ecology of cellulose degradation. Suzuka, Japan. pp. 140.
109. **Ohlde, G.W., Becker,K., Akin, D.E., Rigsby,L.L. y Lyon,C.E. 2002.** Differences in rumen bacterial degradation of morphological fractions in eight cereals straws and effect of digestion on different types of tissues and mechanical properties of straw stalks. Anim. Feed Sci. Technol. 46: 173-186.
110. **Orpin, C.G. 1983.** The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell wall. Animal Feed Sci. and Technol. 10:121-143.
111. **Orpin, C.G. y Joblin, K.N. 1997.** The rumen anaerobic fungi. En: The rumen microbial ecosystem. Hobson, P.N. and Stewart, C.S. (Eds.). 2nd edn. Chapman and Hall. Elsevier Applied Sciences Publ. New York. pp. 140-195.
112. **Ørskov, E. R y McDonald, I. 1979.** The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Incubation Measurements Weighted According to rate of Passage. J. Agric. Sci. (Cambridge), (92), 499 - 503 p.

113. **Ørskov, E. R., F, D, DeB Hovell y F, Mould. 1980.** El Uso de la Técnica de Bolsas de Nylon para la Evaluación de Alimentos. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen - Scotland.
114. **Ørskov, E. R., Reid, G. W. y Kay, M. R. 1988.** Prediction of intake of cattle from degradation characteristics of roughages. *Animal Production*, 46: 29-34, 1988.
115. **Osorio F. 1996.** Efecto de la condición corporal sobre la producción y reproducción en ganado lechero. En: Seminario Avances Tecnológicos de la producción Lechera. Rionegro, Ant. Asociación Holstein, Seccional Antioquia y Finca S. A. 21 p.
116. **Osorio F. 1998.** Efecto de la dieta sobre la composición de la leche. En: Memorias, I Seminario Internacional sobre avances en nutrición y alimentación animal, Medellín, marzo 18 – 19.
117. **Osorio F. 2004.** Efecto del manejo alimentario sobre el sistema especializado de producción lechera. En: memorias Seminario Nacional de Lechería Especializada: Bases Nutricionales y su Impacto en la Productividad. Eventos y Asesorías Agropecuarias, Auditorio de la Salud, Hospital General de Medellín, Septiembre 1 y 2: 141 – 152.
118. **Osorio F. 2004.** Efecto del manejo alimentario sobre el sistema especializado de producción lechera. En: memorias Seminario Nacional de Lechería Especializada: Bases Nutricionales y su Impacto en la Productividad. Eventos y Asesorías Agropecuarias, Auditorio de la Salud, Hospital General de Medellín, Septiembre 1 y 2: 141 – 152.

119. **Paciullo, D.S.C. 2002.**Características anatómicas relacionadas con el valor nutritivo de las gramíneas forrajeras. *Ciencia Rural*.32:103113.
120. **Park, J.G., Lee, S.S., Ha, J.K. y Shin, K.J. 2000.** Relative contribution of rumen anaerobic microbial fractions (bacteria, protozoa and fungi) in the degradation of cell wall constituents. *Korean. J. Animal Sci.* 42:605-618.
121. **Pearce, R.B. 1999.** Cell Wall Alterations and antimicrobial defense perennial plants. En: *Plant cell wall polymers.* American Chemical Society. pp346-359
122. **Pell, A. y Schofield, P. 1993.**Microbial adhesion and degradation of plant cell walls. En: *Forage cell wall structure and digestibility.* Jung, H.G., Buxton, D.R.,
123. **Phillips, M.W. y Gordon, G.L.R. 1995.**Sheep with indigestion. Can rumen fungi help?.*Microbiology Australia.* 16:30.
124. **Piló – Veloso, D., Nascimento, E.A. y Morais, S.A.L. 1993.** Quantitativa chemical and C NMR analysis of Eucalyptus grandis lignin. Proceeding of the Third Symposium on the Chemistry of lignin and other wood components. Belo Horizonte. *Química Nova.* pp. 150-154.
125. **Posada, S., y Rosero, R. 2006.** Modelación de la Cinética de Degradación de Alimentos para Rumiantes. Grupo de Investigación en de Antioquia, Medellín - Colombia.
126. **Quins, J. I., Van Der Wath, J. G. y Mayburgh, S. 1939.**Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. IV. Description of

- experimental technique. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind., 11. pp. 341-360, 1939.
127. **Ramírez GL. 2003.** Pasto Maralfalfa, un manjar para los hatos ganaderos. El Colombiano, sábado 16 de agosto, 4b.
128. **Ramírez, R., Ramírez, R.G. y López, F. 2002.** Factores estructurales de la pared celular que afectan su digestibilidad. CIENCIA UANL.5:180-189.
129. **Ramírez, R.G., Neira- Morales, R.R., Ledezma, R.A. y Garibaldi-González, C.A. 2000.** Ruminal digestion characteristics and effective degradability of cell wall of browse species from northeastern México. Small Ruminant Research. 36:49-54.
130. **Ruiz, R. y De Arriba, J. 1987.** Digestión ruminal de carbohidratos y absorción de AGV. En: Bioquímica nutricional. Tomo I. La Habana. pp.143-177.
131. **Russell, J.B. y Wallace, R.J. 1997.** The rumen microbial ecosystem, P.N.Hobson, C.S.Stewart (Eds). Blackie. London. pp 65.
132. **Saliba, E.O.S., Rodríguez, N.M., Goncalvez, L.C. y Fernández, P.C.C. 1999.** Effect of corn and soybean submitted to the ruminal fermentation on structural carbohydrates digestibility. Arq. Bras. Med. Vet. Zotec. 51:85-88.
133. **Saliba, E.O.S., Rodríguez, N.M., Morais, S.A.L. y Pilo- Veloso,D. 2001.**Ligninas: Métodos de obtención y caracterización química. Ciencia Rural.31:917-928.

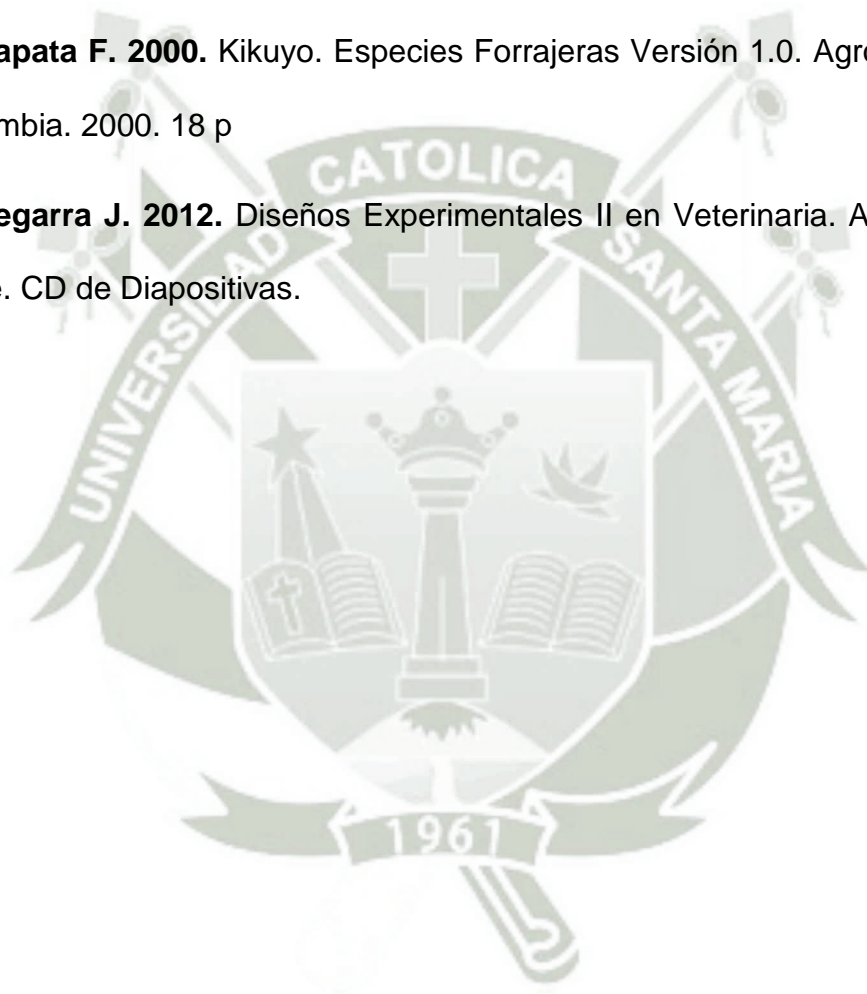
134. **Santra, A. y Karim, S.A. 2002.**Influence of ciliate protozoa on biochemical changes and hydrolitic enzyme profile in the rumen ecosystem. *J. Applied Microbiology*. 92: 801- 811.
135. **Sarkanen, K.V. y Luddwing, C.H. 1971.** Lignins: Ocorrence, formation, structure and reactions. Wiley- Interscience. New York.150 pp.
136. **Silva, L.P. , Silva, L.SW. y Bohnen, H. 2005.**Cell wall components and in vitro digestibility of rice (*Oryza sativa*) straw with different silicon concentration. *Ciência Rural*. 35: 1205-1208
137. **Stack, R.J. y Hungate, R.E. 1984.** Effect of 3-phenilpropanoic acid on capsule and cellulases of *Ruminococcus albus* 8. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48:218-223.
138. **Stern, M. D., Bach, A. y Calsamiglia, S. 1997.** Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.*, 75: 2256-2276, 1997.
139. **Stewart, C.S., Flint, H.J. y Bryant, M.P. 1997.**The rumen bacteria. En: *The rumen microbial ecosystem*. Hobson, P.N. and Stewart, C.S. (eds.). 2nd edn. Chapman and Hall, New York, pp.10-72.
140. **Sudekum, K.H., Oestmann, A. y Stangassinger, M. 1995.** Role of lignin and phenolic monomers in feedstuffs for ruminants. II. Effects on digestion of plant cell wall components. *UBERS. TIERERNAHRG.* 23: 229-234.

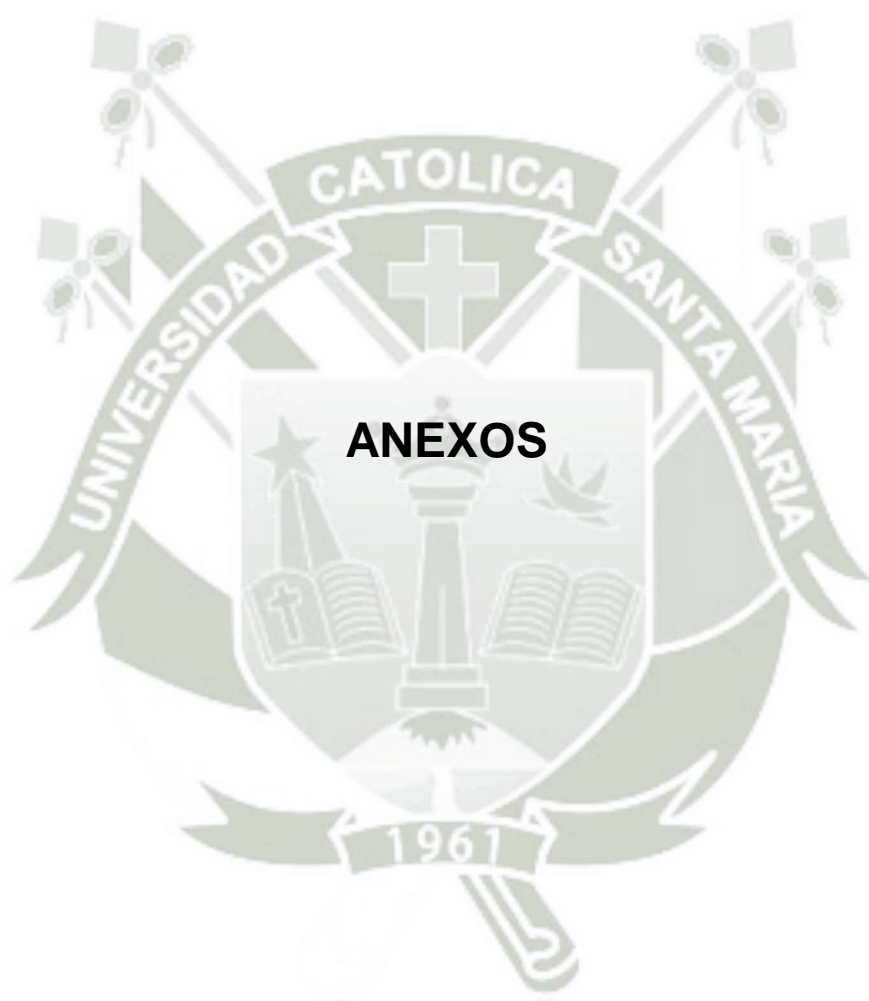
141. **Takabe, K., Fukazawa, K. y Harada, H. 1999.** Deposition of cell wall components in conifer tracheids. En: Plant Cell Wall Polymers. Lewis, N.G., Paice, M.G. (Eds.) American Chemical Society. Washington DC. pp. 47-65.
142. **Terashima, N y Fukushima, K. 1999.** Biogenesis and structure of macromolecular lignin in the cell wall of tree xylem as studied by Microautoradiography. In: Plant Cell wall Polymers. Lewis, N.G., Paice, M.G. (Eds.) American Chemical Society. Washington DC. pp. 160-168. These Doctorat de l' Uiniversitate Paul Sabatier. France. 100 pp.
143. **Tilley, J. M. A. y Terry, R. A. 1963.** A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. Journal of the British Grassland Society, 18: 104-111, 1963.
144. **Undersander, D., Mertens, D. R. y Thiex, N. 1993.** Recommends forage analysis procedure. National forage Testing Association, USA.
145. **Vadiveloo, J. 2000.** Cellulase degradation of whole rice straw. J. Animal and Feed Sci. 9:157-161.
146. **Ventrella, M.C., Rodella, R.A., Costa, C. y Curi, P.R. 1997.** Anatomía y bromatología de especies forrajeras. En: Reunión anual de la Sociedad Brasileira de Zootecnia. Juiz de Fora. SBZ. Brasil. pp. 3-5.
147. **Vidart, D. 2003.** Configuración y distribución de los componentes químicos de las paredes celulares. Conferencia. Disponible en: <[http://www. Agrositio.com/secciones/forrajes/artículo. 2003.htm](http://www.Agro sitio.com/secciones/forrajes/artículo.2003.htm)> Consultado: [5 de julio 2013].

148. **Vilela H, Barbosa FA, Rodríguez NE, y Benedetti E. 2003a.** Efeito da idade planta sobre a produção e valor nutritivo do capim elefante Paraíso (*Pennisetum hybridum*). Anais: XXXVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.
149. **Vilela H, Benedetti E, Barbosa A. 2003b.** Produção de leite em pastagem de capim elefante paraíso (*Pennisetum hybridum*) sob níveis de concentrado, durante o verão, em sistema de manejo rotativo. Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, SERRANA – Nutrição Animal, MATSUDA MINAS – Sementes e Nutrição Animal. URL: [www.matsuda.com.br/ifast/sis\\_php/fotos/producao\\_de\\_leite.doc](http://www.matsuda.com.br/ifast/sis_php/fotos/producao_de_leite.doc)
150. **Vilela H. 2004.** Capim Elefante Paraíso (*Pennisetum hybridum*). URL: <http://www.agronomia.com.br/index.php?option=displaypage&Itemid=130&op=page&SubMenu=>
151. **Wallace, R.J. 1994.** Microbiología ruminal, biotecnología y nutrición de rumiantes. Progresos y problemas. J. Anim Sci. 72: 2992-3003.
152. **Wallace, R.J. y Munro, C.A. 1996.** Influence of rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* on the proteolytic activity of a defined mixture of rumen bacteria growing on solid substrate. Lett. Appl. Microbiol. 3: 23-26.
153. **Warren R.A.J. 1996.** Microbial hydrolysis of polysaccharides. Annu. Rev. Microbiol. 50:183–212.
154. **Wattiaux, M.A. y Armentano L.E. 2002.** Metabolismo de carbohidratos en vacas lecheras. Disponible en: <http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/defaultspn.html>. Consultado: [4 de julio 2013].

155. **Weimer, P.J., Waghorn, G.C., Odt, C.L. y Mertens, D.R. 1999.** Effect of diet on populations of three species of ruminal cellulolytic bacteria in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:122-134. with emphasis on rumen fungi from Malaysia. *Mycología.* 87:655-677.
156. **Williams, A.G. y Coleman, G.S. 1998.**The rumen protozoa. In: The rumen microbial ecosystem. Hobson, PN. y Stewart, C.S. (Eds.). Elsevier Applied Sciences. Londres. pp. 77-128.
157. **Williams, K. 2003.**The physiological and morphological effects of grazing on grasses. An invitational Conference. Disponible en <<http://www.grc.uri.edu/programs/2003.hlm>> Consultado: [8 de julio 2013].
158. **Wilson, J.R. 1993.** Organization of forage plant tissues. En: Forage Cell Wall Structure and Digestibility. Jung H.G, Buxton DR, Hatfield RD, Ralph J. (Eds.).Madison. American Society of Agronomy. pp.1-32.
159. **Wilson, J.R. 1998.** Influence of plant anatomy on digestion and fibre breakdown. En: Microbial and plant opportunities to improve the lignocellulose utilization by Ruminants. Akin, D.E., Ljungdahl, L.G., Wilson,J.R., Harris, P.J. (Eds.). Elsevier New York. USA. pp. 99-117.
160. **Woese, C.R., Kandler, O. y Wheelis, M.L. 1990.** Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Proceedings of the Natural Academy of Sciences USA.* 87:4576-5479.

161. **Wood, C.D. y Plumb, V.E. 1995.** Evaluation of assays for phenolic compounds on the basis of in vitro gas production by rumen microorganisms. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 56:195-206
162. **Wubah, D.A., Akin, D.E. y Borneman, W.S. 1993.** Biology, fiber-degradation, and enzymology of anaerobic zoosporic fungi. *Critical Reviews in Microbiology*, 19:99-115.
163. **Zapata F. 2000.** Kikuyo. Especies Forrajeras Versión 1.0. Agrosoft Ltda. Colombia. 2000. 18 p
164. **Zegarra J. 2012.** Diseños Experimentales II en Veterinaria. Apuntes de clase. CD de Diapositivas.







1. Parcela donde se recolecto la muestra de Maralfalfa (*Pennisetum sp.*, en Irrigación de Majes, sección D.1 de 100 y 120 días.



2. Picado y pesado de la muestra de Maralfalfa (*pennesetum sp*) para llevar al laboratorio con un peso de 2.0kg para realizar los análisis respectivos.



3. Colocación de la muestra de Maralfalfa (*Pennisetum sp*) a la estufa de aire forzado a una temperatura de 55 C centrifugados por 48 horas.



4. Pesado de la muestra en la balanza electrónica después del centrifugado para luego colocarlos en los frascos de plástico.



5. Frascos con las muestras para ser molidos en el molino tipo sífon, con mallas de 1.0mm y 2.0mm.



6. Luego de retirar de la estufa las bolsitas de Dacrón están siendo colocados en el frasco de cristal estéril.



7. Pesado de las bolsitas de Dacrón en la balanza analítica con sensibilidad de 0.1mg.



8. Las bolsitas de Dacrón son atadas y fijadas a tiras de nylon de 60 cm y cada bolsita tiene 03 gr de muestra molida.



9. Colocación de las muestras molidas de Maralfalfa (*Pennisetum.sp*) en bolsitas de Dacrón fijados al nylon momento en que se da inicio a la incubación en el rumen.



10. Retirando las muestras colocadas en el rumen de la vaca una vez terminado el periodo de incubación de las 72 horas.



11. Una vez retirada del rumen se procedió a lavar todas las bolsitas con agua con corriente constante hasta que las bolsitas y nuestra quedan limpias y se escurra agua limpia o clara.



12. Una vez lavadas las nuestras han sido secados en la estufa para luego ser colocadas las muestras de cada bolsita en otras bolsitas de ciflón para ser analizados.



Programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**VACA 2**

N DE BOI	CODIGO	T0	R2	T0	R2	T2	R2	T2	R2	T4	R2	T4	R2	T8	R2	T8	R2	T16	R2	T16	R2	T24	R2	T24	R2	T48	R2	T48	R2	T72	R2	T72	R2	PESO BOLSA	PESO MUESTRA (PI)	% NI	PESO SECO B+M	(Peso final)	% Nf	% deg PC	Promedio	
582	JM1																																	2.5392	2.0052	12.8000	4.2377	1.699	5.74	62.03		
998	JM1																																		2.5733	2.0044	12.8000	4.2921	1.719	6.18	58.62	60.32
146	JM1																																		2.5240	2.0016	12.8000	4.1899	1.666	6.78	55.91	
605	JM1																																		2.5290	2.0112	12.8000	4.1874	1.658	9.34	39.86	47.88
50	JM1																																		2.4974	2.0048	12.8000	4.1153	1.618	6.72	57.65	
31	JM1																																		2.5149	2.0069	12.8000	4.1552	1.640	9.62	38.58	48.11
601	JM1																																		2.4337	2.0076	12.8000	3.9786	1.545	8.19	50.74	
990	JM1																																		2.5730	2.0078	12.8000	4.0616	1.489	8.20	52.49	51.62
548	JM1																																		2.5168	2.0020	12.8000	3.8251	1.308	6.69	65.85	
79	JM1																																		2.5048	2.0081	12.8000	3.8483	1.344	7.00	63.43	64.64
989	JM1																																		2.5943	2.0047	12.8000	3.4610	0.867	6.69	77.39	
762	JM1																																		2.4937	2.0026	12.8000	3.2816	0.788	7.96	75.53	76.46
369	JM1																																		2.4766	2.0005	12.8000	3.0988	0.622	7.32	82.22	
4	JM1																																		2.4789	2.0110	12.8000	3.0663	0.587	7.26	83.44	82.83
219	JM1																																		2.4294	2.0024	12.8000	2.9326	0.503	9.06	82.22	
14	JM1																																		2.4812	2.0089	12.8000	2.9606	0.479	10.32	80.76	81.49

JORGE L. ZEPEDA PIEDRES MZ, M.S.C.  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
C.I.M.V.F. 3024



Programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Sr(es.)  
Leony Romero ( )  
Arequipa  
Arequipa

DETERMINACION DE LA DEGRADABILIDAD DE LA MATERIA SECA MARALFALFA 120

VACA 1

N° DE BOLSA	CODIGO		PESO BOLSA	PESO MUESTRA	PESO SECO B+M	P. SECO MUESTRA	% de degradabilidad	Promedio
	GM3	T0						
14	24	GM3 T0	2.5288	2.0035	4.2958	1.7670	11.8043	
13	511	GM3 T0	2.5002	2.0051	4.2625	1.7623	12.1091	11.96
12	758	GM3 T2	2.5218	2.0092	4.2709	1.7491	12.9455	
11	337	GM3 T2	2.5031	2.0018	4.2642	1.7611	12.0242	12.48
10	765	GM3 T4	2.4870	2.0018	4.2058	1.7188	14.1373	
9	349	GM3 T4	2.6437	2.0099	4.3755	1.7318	13.8365	13.99
8	3	GM3 T8	2.5021	2.0089	4.1711	1.6690	16.9197	
7	544	GM3 T8	2.5326	2.0015	4.1971	1.6645	16.8374	16.88
6	521	GM3 T16	2.4764	2.0096	3.9166	1.4402	28.3340	
5	25	GM3 T16	2.4845	2.0071	4.0028	1.5183	24.3535	26.34
4	378	GM3 T32	2.5586	2.0001	3.5635	1.0049	49.7575	
3	463	GM3 T32	2.5868	2.0020	3.6460	1.0592	47.0929	48.43
2	27	GM3 T48	2.5041	2.0036	3.3666	0.8625	56.9525	
1	775	GM3 T48	2.5541	2.0169	3.2755	0.7214	64.2322	60.59
	78	GM3 T72	2.5305	2.0091	3.1928	0.6623	67.0350	
	770	GM3 T72	2.6212	2.0120	3.2653	0.6441	67.9871	67.51

*[Signature]*  
JORGE L. ZEBAYE FLORES, M.V., M.Sc.,  
MEDICO VETERINARIO / TECNISTA  
C.M.V.P. 3127



Programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**VACA 2**

16	43	GM3	T0	R1	2.5413	2.0021	4.2816	1.7403	13.0763	
15	798	GM3	T0	R2	2.5939	2.0062	4.3975	1.8036	10.0987	11.59
14	51	GM3	T2	R1	2.5110	2.0050	4.2558	1.7448	12.9776	
13	351	GM3	T2	R2	2.4807	2.0104	4.2322	1.7515	12.8780	12.93
12	579	GM3	T4	R1	2.4630	2.0104	4.1822	1.7192	14.4847	
11	782	GM3	T4	R2	2.5204	2.0084	4.2474	1.7270	14.0112	14.25
10	23	GM3	T8	R1	2.4872	2.0077	4.1458	1.6586	17.3881	
9	5	GM3	T8	R2	2.4753	2.0058	4.1587	1.6834	16.0734	16.73
8	974	GM3	T16	R1	2.5425	2.0020	3.9432	1.4007	30.0350	
7	440	GM3	T16	R2	2.5046	2.0033	3.8783	1.3737	31.4281	30.73
6	799	GM3	T32	R1	2.5273	2.0013	3.4558	0.9285	53.6052	
5	28	GM3	T32	R2	2.5222	2.0054	3.5535	1.0313	48.5739	51.09
4	237	GM3	T48	R1	2.5476	2.0044	3.2267	0.6791	66.1195	
3	344	GM3	T48	R2	2.4858	2.0056	3.1677	0.6819	66.0002	66.06
	465	GM3	T72	R1	2.5062	2.0252	3.0650	0.5588	72.4077	
	11	GM3	T72	R2	2.4346	2.0179	3.1253	0.6907	65.7713	69.09

JORGE L. ZEBICH FERRERES MVZ. M.C.  
MEDICINA VETERINARIA ZOOECNISTA  
C.M.V.F. 3024



Programa Profesional de Maestría en Veterinaria y Zootecnia

Sr(es.)  
**Leony Romerc**  
**Arequipa**  
**Arequipa**

**DETERMINACION DE LA DEGRADABILIDAD PC MARALFALFA 120 D**

VACA 1	N DE BOLSA	CODIGO		PESO BOLSA	PESO MUESTRA (Pi)	% Ni	PESO SECO B+M	(Peso final)	% Nf	% deg PC	Promedio
		T0	R1								
	378	JM1	T0	1	2.5288	5.10	4.2958	1.7670	4.8567	16.0123	
	463	JM1	T0	1	2.5002	5.10	4.2625	1.7623	4.8999	15.5582	15.79
	27	JM1	T2	1	2.5218	5.10	4.2709	1.7491	4.7929	18.1877	
	775	JM1	T2	1	2.5031	5.10	4.2642	1.7611	4.8192	16.8681	17.53
	78	JM1	T4	1	2.4870	5.10	4.2058	1.7188	4.8214	18.8285	
	770	JM1	T4	1	2.6437	5.10	4.3755	1.7318	4.6813	20.9100	19.87
	454	JM1	T8	1	2.5021	5.10	4.1711	1.6690	4.7052	23.3510	
	43	JM1	T8	1	2.5326	5.10	4.1971	1.6645	4.7200	23.0333	23.19
	798	JM1	T16	1	2.4764	5.10	3.9166	1.4402	4.9598	30.3038	
	51	JM1	T16	1	2.4845	5.10	4.0028	1.5183	4.9328	26.8329	28.57
	351	JM1	T32	1	2.5586	5.10	3.5635	1.0049	5.3689	47.1088	
	579	JM1	T32	1	2.5868	5.10	3.6460	1.0592	5.5920	41.9887	44.55
	782	JM1	T48	1	2.5041	5.10	3.3666	0.8625	5.5565	53.0995	
	23	JM1	T48	1	2.5541	5.10	3.2755	0.7214	5.8862	58.7186	55.91
	5	JM1	T72	1	2.5305	5.10	3.1928	0.6623	5.9952	61.2486	
	974	JM1	T72	1	2.6212	5.10	3.2653	0.6441	6.2487	60.7768	61.01

*[Signature]*  
 JIMENEZ, LUIS ALBERTO  
 INGENIERO EN ZOOTECNIA  
 UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
 Arequipa, Perú



Laboratorio de  
**Nutrición y  
Alimentación  
Animal**

Programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

VACA 2

N DE BOLSA	CODIGO		PESO BOLSA	PESO MUESTRA (PI)	% NI	PESO SECO B+M	(Peso final)	% NF	% deg PC	Promedio
	T0	R1								
43	JM1	T0	2.5413	2.0021	5.1000	4.2816	1.7403	4.9311	15.95	
798	JM1	R2	2.5939	2.0062	5.1000	4.3975	1.8036	4.7521	16.23	16.09246291
51	JM1	T2	2.5110	2.0050	5.1000	4.2558	1.7448	4.8287	17.61	
351	JM1	T2	2.4807	2.0104	5.1000	4.2322	1.7515	4.7518	18.83	18.21602681
579	JM1	T4	2.4630	2.0104	5.1000	4.1822	1.7192	4.7626	20.14	
782	JM1	T4	2.5204	2.0084	5.1000	4.2474	1.7270	4.6660	21.33	20.73600069
23	JM1	T8	2.4872	2.0077	5.1000	4.1458	1.6586	4.5795	25.82	
5	JM1	T8	2.4753	2.0058	5.1000	4.1587	1.6834	4.5938	24.40	25.1113884
974	JM1	T16	2.5425	2.0020	5.1000	3.9432	1.4007	5.4551	25.16	
440	JM1	T16	2.5046	2.0033	5.1000	3.8783	1.3737	5.2626	29.24	27.20277262
799	JM1	T32	2.5273	2.0013	5.1000	3.4558	0.9285	5.5495	49.52	
28	JM1	T32	2.5222	2.0054	5.1000	3.5535	1.0313	5.6115	43.42	46.46604527
237	JM1	T48	2.5476	2.0044	5.1000	3.2267	0.6791	5.8951	60.84	
344	JM1	T48	2.4858	2.0056	5.1000	3.1677	0.6819	6.5479	56.35	58.59236705
465	JM1	T72	2.5062	2.0252	5.1000	3.0650	0.5588	6.7607	63.42	
11	JM1	T72	2.4346	2.0179	5.1000	3.1253	0.6907	6.1574	58.67	61.04900231

JORRE I. ZULETA PAREDES JM, M.Sc.  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
C.A.N.V. 3024



Sr(es.)  
**Leony Romero Contreras**  
Arequipa  
Arequipa

**DETERMINACION DE LA DEGRADABILIDAD MS MARALFALFA 100 D**

VACA 1		CODIGO		PESO BOLSA	PESO MUESTRA	PESO SECO B+M	P. SECO MUESTRA	% de degradabilidad	Promedio
Nº DE BOLSA	GM3	T0	R1						
14	R11	GM3	T0	2.4894	2.0016	4.2029	1.7135	14.393	
13	984	GM3	T0	2.5774	2.0084	4.2993	1.7219	14.265	14.33
12	1002	GM3	T2	2.5160	2.0004	4.1461	1.6301	18.511	
11	340	GM3	T2	2.4761	2.0051	4.1061	1.6300	18.707	18.61
10	496	GM3	T4	2.4412	2.0063	4.1204	1.6792	16.304	
9	40	GM3	T4	2.5302	2.009	4.1869	1.6567	17.536	16.92
8	22	GM3	T8	2.5472	2.001	4.1090	1.5618	21.949	
7	436	GM3	T8	2.4944	2.0036	4.0233	1.5289	23.692	22.82
6	416	GM3	T16	2.4953	2.0008	3.8650	1.3697	31.542	
5	759	GM3	T16	2.5268	2.0014	3.8267	1.2999	35.050	33.30
4	343	GM3	T32	2.5565	2.0004	3.5974	1.0409	47.965	
3	794	GM3	T32	2.5096	2.0019	3.4164	0.9068	54.703	51.33
2	347	GM3	T48	2.5018	2.0068	3.2244	0.7226	63.992	
1	997	GM3	T48	2.5535	2.0012	3.1899	0.6364	68.199	66.10
	198	GM3	T72	2.6145	2.0248	3.1579	0.5434	73.163	
	2	GM3	T72	2.5280	2.0635	3.1805	0.6525	68.379	70.77

*[Signature]*  
JURE: L. ZEPEDA PEREZ M. B.Sc.  
REPRESENTANTE DEL INSTITUTO TECNISTA  
C.A. 117- 3023



