



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

“CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA Y DETERMINACIÓN IN VITRO DEL VALOR NUTRITIVO DEL RYE GRASS Y DEL PASTO AZUL DE DIFERENTES PISOS ALTITUDINALES PARA LA ALIMENTACIÓN DEL CUY (*Cavia porcellus*)”

NICOLAS FERNANDO JANETA ALVARADO

Tesis presentada ante el Instituto de Postgrado y Educación Continua de la ESPOCH, como requisito parcial para la obtención del grado de Magíster en Producción Animal

RIOBAMBA - ECUADOR

2015

INDICE

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
SUMMARY	ix
I. INTRODUCCIÓN	2
II. OBJETIVO GENERAL.....	3
III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
A. ESPECIES FORRAJERAS	4
1. Rye grass (<i>Lolium perenne</i>)	4
a. Características	4
b. Distribución y zonas de cultivo	4
c. Características Nutricionales	4
2. Pasto Azul (<i>Dactylis glomerata</i>)	8
a. Hábito de crecimiento.....	8
b. Características nutricionales	9
B. PISOS CLIMATICOS EN EL ECUADOR	12
1. Templado (2500 – 3200 msnm)	13
2. Factores que afectan en la composición nutricional de las fuentes fibrosas	14
a. Temperatura.....	15
b. Efecto de la luz y de la longitud del día	17
c. Latitud.....	18
d. Suelo	19
e. Altitud	19
C. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DIGESTIVA DEL CUY	20
1. Anatomía y fisiología digestiva de los monogástricos	20
a. Metabolismo del ciego.....	21

D. COMPOSICION QUIMICA DE LOS ALIMENTOS.....	24
1. Análisis proximal, esquema de Weende.....	24
2. Análisis de Van Soest.....	25
a. Esquema de Van Soest para fraccionar las Paredes Celulares	25
E. DIGESTIBILIDAD.....	26
1. Investigaciones sobre digestibilidad	27
2. Métodos para el estudio de la digestibilidad en conejos.	29
a. Digestibilidad método del licor cecal	31
F. FIBRA DIETARIA	33
1. Principales constituyentes parietales	34
a. Lignina.....	35
b. Celulosa	36
c. Hemicelulosas	36
d. Pectinas.....	37
e. Carbohidratos fibrosos no parietales	37
2. Características de la matriz fibrosa	38
G. PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS	38
1. Determinación de las propiedades físico- químicas.	39
a. Capacidad de adsorción de agua.....	40
b. Volumen, empaquetamiento y solubilidad. Fundamento teórico	42
c. Capacidad bufferante o tampón. Fundamento teórico.....	43
V. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	44
A. LOCALIZACIÓN.....	44
B. UNIDADES EXPERIMENTALES	44
C. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	45
D. MEDICIONES EXPERIMENTALES.....	46
E. ANALISIS ESTADISTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA.....	47
F. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	47
G. METODOLOGIA DE EVALUACION	48
1. Análisis proximal	48
a. Humedad Inicial.....	48

b. Humedad Higroscópica	48
c. Humedad Total	49
d. Ceniza	49
e. Proteína Bruta	49
f. Extracto Etéreo.....	50
g. Fibra Cruda	50
h. Extracto libre de nitrógeno.....	51
2. Determinación de paredes celulares	51
a. Fibra Neutra Detergente (F.N.D.)	51
b. Fibra Acido Detergente (F A. D.)	51
c. Lignina Acida Detergente (L. A. D.)	52
3. Determinación de las Propiedades Físico-Químicas.....	52
a. Capacidad de adsorción del agua (método gravimétrico)	52
1. Principio.....	52
2. Procedimiento	53
b. Capacidad bufferante o tampón	53
1. Principio, (capacidad bufferante intrínseca)	53
2. Procedimiento	54
c. Solubilidad	54
1. Técnicas de determinación. Procedimiento analítico. Cálculos.....	54
4. Determinación de la digestibilidad in vitro	56
a. Digestibilidad pepsina pancreatina Viscozyme.....	56
1. Procedimiento	56
a) Primer período de incubación	56
b) Segundo período de incubación.....	56
c) Tercer período de incubación.....	57
b. Digestibilidad técnica del licor cecal	58

1. Preparación del licor cecal	58
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
A. RYE GRASS	60
1. Análisis proximal	60
a. Humedad.....	60
b. Proteína bruta.....	60
c. Proteína verdadera	62
d. Ceniza	63
e. Fibra Cruda	64
f. Extracto Etéreo.....	66
g. Extracto libre de nitrógeno.....	67
2. Análisis de paredes celulares.....	68
a. Fibra detergente neutra	68
b. Fibra detergente acida	70
c. Lignina acida detergente	71
3. Propiedades físico-químicas	73
a. Solubilidad.....	73
b. Absorción de agua	75
c. Capacidad bufferante acida.....	77
d. Capacidad bufferante básica.....	78
4. Digestibilidad in-vitro	79
a. Digestibilidad método licor cecal	79
b. Digestibilidad método pepsina - pancreatina -Viscozyme	80
B. PASTO AZUL.....	82
1. Análisis proximal	82
a. Humedad.....	82
b. Proteína bruta.....	82
c. Proteína verdadera	85
d. Ceniza	86
e. Fibra cruda	87
f. Extracto etéreo	88

g. Extracto libre de nitrógeno.....	89
2. Análisis de paredes celulares.....	89
a. Fibra detergente neutra	91
b. Fibra detergente acida	92
c. Lignina acida detergente	93
3. Propiedades físico-químicas	95
a. Solubilidad.....	95
b. Absorción de agua	97
c. Capacidad bufferante acida.....	97
d. Capacidad bufferante básica.....	98
4. Digestibilidad in-vitro	99
a. Digestibilidad método licor cecal	99
b. Digestibilidad método Pepsina - pancreatina -Viscozyme	100
VII. CONCLUSIONES	102
VIII. RECOMENDACIONES.....	103
IX. BIBLIOGRAFIA	104
X. ANEXOS	112

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA (%MS) DEL RYE GRASS	5
Cuadro 2. VALOR NUTRICIONAL PROMEDIO DE MUESTRAS DE PASTO RYE GRASS DE LA SABANA DE BOGOTÁ.	6
Cuadro 3. COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DEL RYE GRASS DE DIFERENTES EDADES	6
Cuadro 4. COMPOSICION NUTRICIONAL DE TRES GENOTIPOS DE RYE GRASS EN COLOMBIA	7
Cuadro 5. COMPOSICION QUIMICA Y VALOR NUTRITIVO DEL RYE GRASS A LOS 60 DIAS DE REBROTE EN EPOCA LLUVIOSA Y SECA	8
Cuadro 6. COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DEL PASTO AZUL EN LA ÉPOCA DE PREFLORACIÓN.	9
Cuadro 7. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD IN VITRO DEL PASTO AZUL EN PRIMAVERA, OTOÑO E INVIERNO.	10
Cuadro 8. FIBRA DETERGENTE NEUTRO (FDN), DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> (DIV) Y PROTEÍNA CRUDA (PC) DE VARIEDADES DE PASTO AZUL EN TRES LOCALIDADES DE CHILE.	11
Cuadro 9. COMPOSICION QUIMICA Y VALOR NUTRITIVO DEL PASTO AZUL A LOS 60 DIAS DE REBROTE EN EPOCA LLUVIOSA Y SECA	12
Cuadro 10. CAPACIDAD FERMENTATIVA EN PORCENTAJE DEL TOTAL DEL TRACTO DIGESTIVO	22
Cuadro 11. EFECTO DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD FECAL DE NUTRIENTES EN DIETAS PARA CONEJOS	29
Cuadro 12. VALORES DE DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MS, FDN E INDICADORES DE FERMENTACIÓN IN VITRO DE CINCO PLANTAS FORRAJERAS TROPICALES EN CONEJOS.	31
Cuadro 13. EFECTO DEL MÉTODO Y LA REPETICIÓN EN LOS VALORES DE DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MS POR EL METODO CECAL Y FECAL DE VARIOS PIENSOS EVALUADOS	32
Cuadro 14. EFECTOS FISIOLÓGICOS PRINCIPALES EN ESPECIES MONO GÁSTRICOS DE LA FIBRA DIETARIA EN RELACIÓN CON SUS PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS.	40
Cuadro 15. PROPIEDADES FÍSICAS DE LA FIBRA DIETÉTICA DE FUENTES FIBROSAS	42

Cuadro16. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE CUATRO SECTORES A DIFERENTES ALTURAS DENTRO DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO	44
Cuadro 17.- ESQUEMA DEL EXPERIMENTO RYE GRASS	45
Cuadro 18.- ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PASTO AZUL	46
Cuadro 19. ESQUEMA DEL ADEVA	47
Cuadro 20. ANALISIS PROXIMAL DEL RYE GRASS A DIFERENTES ALTURAS	61
Cuadro 21. ANALISIS PAREDES CELULARES DEL RYE GRASS A DIFERENTES ALTURAS	69
Cuadro 22. PROPIEDADES FISICO QUÍMICAS Y DOS MÉTODOS DE DIGESTIBILIDAD DEL RYE GRASS A DIFERENTES ALTURAS	74
Cuadro 23. ANALISIS PROXIMAL DEL PASTO AZUL A DIFERENTES ALTURAS	83
Cuadro 24. ANALISIS DE PAREDES CELULARES DEL PASTO AZUL A DIFERENTES ALTURAS	90
Cuadro 25. PROPIEDADES FISICO QUÍMICAS Y DOS MÉTODOS DE DIGESTIBILIDAD DEL PASTO AZUL A DIFERENTES ALTURAS	96

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación simplificada de la fibra dietaria	35
Figura 2. Capacidad de adsorción de agua, método de centrifugación	53
Figura 3. Capacidad bufferante intrínseca	54
Figura 4. Determinación del volumen	55
Figura 5. Determinación de la solubilidad	55
Figura 6. Análisis de regresión del contenido de proteína en relación con la altura de establecimiento del Rye grass.	63
Figura 7. Análisis de regresión del contenido de ceniza en relación con la altura de establecimiento del Rye grass	64
Figura 8. Análisis de regresión del contenido de fibra cruda en relación con la altura de establecimiento del Rye grass	65
Figura 9. Contenido de Extracto etéreo del Rye grass a diferentes alturas	66
Figura 10. Análisis de regresión del contenido de extracto etéreo en relación con la altura de establecimiento del Rye grass	67
Figura 11. Contenido de FDN en Rye grass a diferentes alturas	68
Figura 12. Análisis de regresión del contenido de FDN en relación con la altura de establecimiento del Rye grass	70
Figura 13. Análisis de regresión del contenido de FDA en relación con la altura de establecimiento del Rye grass	71
Figura 14. Contenido de LAD en Rye grass a diferentes alturas	72
Figura 15. Análisis de regresión del contenido de LAD en relación con la altura de establecimiento del Rye grass	73

Figura 16. Análisis de regresión de la solubilidad del Rye grass en relación con la altura de establecimiento	75
Figura 17. Absorción de agua del Rye grass de diferentes alturas	76
Figura 18. Análisis de regresión de la absorción de agua del Rye grass en relación con la altura de establecimiento	76
Figura 19. Capacidad bufferante básica de la fibra del Rye grass	78
Figura 20. Digestibilidad in vitro del Rye grass, método del licor cecal	79
Figura 21. Digestibilidad in vitro del Rye grass, método Viscozyme	81
Figura 22. Análisis de regresión del contenido de proteína bruta en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.	85
Figura 23. Análisis de regresión del contenido de proteína verdadera en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.	86
Figura 24. Fibra cruda de Pasto azul de diferentes alturas	87
Figura 25. Análisis de regresión del contenido de fibra cruda en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.	88
Figura 26. Análisis de regresión del contenido de extracto etéreo en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.	89
Figura 27. Análisis de regresión del contenido de FDN en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.	91
Figura 28. Contenido de FDA del Pasto azul de diferentes alturas.	92
Figura 29. Análisis de regresión del contenido de FDA en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.	93
Figura 30. Contenido LAD en el Pasto azul a diferentes alturas	94

Figura 31. Análisis de regresión del contenido de LAD en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul	94
Figura 32. Análisis de regresión de la solubilidad del Pasto azul en relación con la altura de establecimiento.	95
Figura 33. Capacidad bufferante acida de la fibra del Pasto azul	98
Figura 34. Análisis de regresión de la capacidad bufferante básica del Pasto azul en relación con la altura de establecimiento.	99
Figura 35 Digestibilidad in vitro del Pasto azul, método del licor cecal	100
Figura 36. Digestibilidad in vitro del pasto azul, método Viscozyme	101

RESUMEN

Se evaluó el rye grass y pasto azul de diferentes alturas para la alimentación del cuy, a través del análisis proximal, paredes celulares, propiedades físicas de la fibra y la digestibilidad in vitro a través de dos métodos. De acuerdo a los análisis el Rye grass a 2900 m es el más nutritivo con un 11,3 % de proteína verdadera, 39.4 % de ELN y el más bajo contenido de fibra cruda (27.9 %). En el pasto azul esta tendencia es más evidente, siendo a 2900 m, más alto en proteína verdadera y ELN (14.05 y 36.7 %) y el más bajo en fibra cruda con 29.62 %. Respecto a paredes celulares se observa que el Rye grass a 2900 m, reporta valores más bajos de FDN, FDA Y LAD (56.2, 34.9 y 6.8 respectivamente) y los más altos en nutrientes, lo cual indica menor contenido de fibra y mayor digestibilidad a esta altitud. En el pasto azul los datos son heterogéneos, sin embargo al ser la Lignina menor a 2900 m, y considerando que es considerada como indicador de digestibilidad, asumimos mayor digestibilidad del pasto azul a esta altitud. En cuanto a las propiedades físico químicas de la fibra del Rye grass, se encontró que cultivado a 2900 m presento mejores valores de solubilidad y capacidad bufferante, mientras que para la absorción de agua fue superior a 2700 m; en el pasto azul la solubilidad, la capacidad de absorción de agua y la capacidad buffer acida y básica fueron superiores a 2900 m con valores de 25.6 %, 6.9, 0.4 y 0.38 Meq respectivamente. La digestibilidad fue superior para ambos pastos a 2900 msnm, tanto por el método del licor cecal, como por el método enzimático.

SUMMARY

We evaluated the rye grass and blue grass at different heights for power the guinea pig, through the proximate analysis, cell walls, physical properties of the fiber and in vitro digestibility through two methods. According to the analysis the Rye grass to 2900 m is the most nutritious with a 11.3 % of true protein, 39.4 % of ELN and the lowest crude fiber content (27.9 %), in the blue grass this tendency is most evident, still to 2900 m, highest in true protein and NNE (14.05 and 36.7 per cent) and lowest in crude fiber with 29.62 %. With regard to cell walls can be seen that the rye grass to 2900 m, reported lower values of NDF, ADF and ADL (56.2 , 34.9 and 6.8 respectively) and the most high in nutrients, which indicates lower fiber content and higher digestibility at this altitude. In the blue grass data are more heterogeneous, however as the lignin less than 2900 m, and considering that it is considered as an indicator of digestibility, we assume higher digestibility of the blue grass at this altitude. In regard to the physical chemical properties of the fiber of the rye grass, it was found that grown to 2900 m presented better solubility values and bufferante capacity, while for the water absorption was greater than 2700 m; in the blue grass the solubility, the ability to absorb water and the buffer capacity acid and basic were higher than 2900 m with values of 25.6 %, 6,9 , 0.4 and 0.38 meq respectively. The digestibility was superior to both pastures to 2900 masl, both by the method of the cecal liquor, as by the enzymatic method.

I. INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, de las especies animales nativas de los Andes, con excepción de los camélidos (llamas y alpacas), la única especie que se ha sometido a un manejo comercial y que tiene significación en la alimentación de la población altoandina es el cuy. El cuy constituye un producto alimenticio de alto valor nutricional que históricamente contribuyó a la seguridad alimentaria de la población rural de escasos recursos y su crianza es una práctica arraigada en las familias de las comunidades rurales de la zona andina (Gómez y Vergara, 1993).

La ubicación del Ecuador en el planeta, es sobre la franja central de la zona tropical o tórrida, y su clima debería ser uniformemente cálido, caso que no sucede, ya que se experimenta toda clase de climas; la temperatura va desde extremos de calor, como en la zona interna de la Costa y los parajes selváticos del Oriente, a extremos de frío en las cumbres nevadas de la cordillera. El factor que provoca estos resultados es el relieve, por su disposición y su altitud, la influencia que ejercen también las brisas marinas en el archipiélago de Colón y en la franja más externa del litoral (Tello, 2012). Es por ello que los climas del Ecuador deben ser considerados de acuerdo a sus regiones naturales. Ecuador tiene una gran variedad de pisos climáticos, y dispone diversos forrajes de clima templado para la alimentación de cuyes, los más utilizados en esta especie son: la alfalfa, Rye grass, pasto azul, avena, por la mayor población de cuyes en la región interandina, alrededor del 95%, de los cuales el 17% se encuentran en la Provincia de Chimborazo, los que no han sido evaluados en las condiciones concretas del país (GAD Chimborazo 2014).

Aguilar, M. (1998), en su investigación realizada en la Zamorano, de la carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria, corrobora que la calidad de hojas y tallos se reduce con las altas temperaturas y que la temperatura está ligada a la altura. Debe entonces valorarse los forrajes a diferentes alturas para establecer las diferencias en esta región interandina.

La calidad del forraje está asociada con el estado de crecimiento de la planta, el tipo de planta y los factores del medio ambiente. En las gramíneas, la calidad de hojas y tallos se reduce con las altas temperaturas, siendo el efecto más pronunciado en las gramíneas tropicales. La calidad de las hojas se reduce como resultado de la lignificación de la nervadura central, la cual contiene el mayor porcentaje de lignina. La producción de materia seca aumenta a medida que aumenta la temperatura, la PC aumenta cuando disminuye la temperatura mientras el contenido de FND y FAD disminuye (Aguilar. M., 1998).

La mejor forma de determinar el valor nutritivo de un alimento consiste en analizar de manera directa los coeficientes de digestibilidad de sus nutrientes mediante ensayos de digestibilidad *in vivo*. Sin embargo, estos ensayos resultan en muchos casos poco prácticos o inviables (debido al tiempo y al coste económico que conllevan), por lo que sólo pueden llevarse a cabo en determinados centros de investigación. Para facilitar la evaluación de los alimentos en la práctica, la composición química como también la digestibilidad "In Vitro" deben ser examinados a fin de predecir la digestibilidad "In Vivo" y el valor de la energía, es así que varios métodos han sido desarrollados para estimar el valor nutritivo de los alimentos para conejos usando técnicas rápidas, fáciles y menos costosas (Pascual, J.J., *et al.* 2000).

El uso de las fuentes alimentarias debe ir acompañado del estudio de su composición físico y química y a partir de esta se puede determinar sus potencialidades nutricionales y su efecto en la fisiología digestiva de los animales monogástricos; las características fisicoquímicas deben complementarse con estudios de digestibilidad ya sea por métodos *in vivo* o *in vitro* para poder predecir el valor de las fuentes alimenticias. Estos últimos pueden realizarse con el uso de tres ataques sucesivos (clorhídrico – pepsina – pancreatina) y contenido cecal o complejo multienzimático (Savón 2002).

Hipótesis

Las diferentes altitudes bajo estudio, influyen en el valor nutricional del rye grass y el pasto azul, y en su composición química, paredes celulares, propiedades físicas de la fibra y coeficiente de digestibilidad para el cuy (*Cavia Porcellus*).

II. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar física y químicamente y determinar In vitro el valor nutritivo del Rye grass y el Pasto azul de diferentes pisos altitudinales para la alimentación del cuy (*Cavia porcellus*)

III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar la composición química (análisis proximal y paredes celulares) de dos de los forrajes más representativos para la producción de cuyes cultivado a cuatro alturas en la Provincia de Chimborazo de Ecuador.
- Caracterizar las propiedades físicas de la fibra (solubilidad, capacidad de adsorción de agua, capacidad amortiguadora) de dos de los forrajes más representativos para la producción de cuyes cultivado a cuatro alturas en la Provincia de Chimborazo de Ecuador.
- Determinar el coeficiente de digestibilidad de la materia seca a partir de pruebas de digestibilidad In vitro por medios enzimáticos (pepsina + HCl + pancreatina + Viscozyme), (pepsina + HCl + pancreatina + licor cecal) de los materiales caracterizados.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

A. ESPECIES FORRAJERAS

1. Rye grass (*Lolium perenne*)

a. Características

Muñoz (1999), señala que es la especie cespitosa más difundida por el mundo, ya que se encuentra en casi todas las mezclas. Esta gramínea entra a formar parte de la mayoría de mezclas forrajeras, porque consigue una perfecta base de altura, apoyo y resistencia para el resto de especies.

El Rye grass perenne se cultiva en el continente americano con éxito entre 1800 y 3600 msnm, siendo su mejor rango 2200 a 3000 msnm. Arriba de los 3000 m, debido a las bajas temperaturas, su crecimiento se ve reducido y los periodos de recuperación se deben prolongar en 2-4 semanas, con respecto a los períodos convencionales (Villalobos, 2006).

b. Distribución y zonas de cultivo

Según Vélez *et al.* (2002), el Rye grass perenne (*Lolium perenne*), también llamado Rye grass inglés, es una gramínea amacollada, perenne de clima templado, nativo de Europa, Asia templada y el Norte de África. Esta ampliamente distribuido a través del mundo, incluyendo Norte y Sur de América, Europa, Nueva Zelanda y Australia.

c. Características Nutricionales

Según De Blas *et al* (2003), en las tablas del FEDNA, en el Rye grass, como en toda gramínea pratense a la que se le pueden practicar cortes sucesivos, el valor nutritivo está muy asociado a la composición morfológica de la planta, es decir, al

momento de corte. Así, un primer corte de Rye grass, cuando la planta es mayoritariamente hoja, tiene un elevado contenido en agua (83-85%), un excelente valor energético y proteico y un elevado contenido en cenizas, con una relación calcio/potasio del orden de 1,2-1,3 a 1. El valor energético y proteico irá disminuyendo, a medida que la planta tenga más edad, como consecuencia de un incremento en el contenido en fibra, a costa de una disminución de los carbohidratos no estructurales, llegando a convertirse en un forraje cuyo valor energético y proteico es mucho menor, como sucede con el Rye grass italiano anual en floración.

En el cuadro 1 se reporta la composición del Rye grass según y su clasificación según la misma.

Cuadro 1. COMPOSICIÓN QUÍMICA (%MS) DEL RYE GRASS

Valor Relativo del Forraje	Humedad	Cenizas	PB	EE	FB	FND	FAD	LAD
Excelente	76.2	12.4	19.7	3.99	19.1	40.5	22.6	2.34
Primera	76.7	12.8	14.4	3.23	23.3	46.0	27.8	2.57
Segunda	73.9	13.2	12.0	2.56	26.6	52.1	31.3	3.23
Tercera	70.3	12.4	10.4	2.29	30.4	59.3	35.3	4.06
Cuarta	69.2	14.4	8.00	2.33	32.3	65.2	38.0	5.24

Fuente: FEDNA (2014)

Carulla, J (2013), afirma que a pesar de que el kikuyo es el pasto más difundido en la zona andina de Colombia por sus mínimas exigencias, el Rye grass es muy utilizado también, especialmente como pasto de corte y reporta valores promedios de composición bromatológica y de paredes celulares de su investigación realizada en Bogotá (Cuadro 2).

Cuadro 2. VALOR NUTRICIONAL PROMEDIO DE MUESTRAS DE PASTO RYE GRASS DE LA SABANA DE BOGOTÁ.

	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTANDAR	MÁXIMO	MÍNIMO
MATERIA SECA (%)	14.9	2.2	18.9	11.1
PROTEÍNA CRUDA	26.3	4.4	29.8	16.7
PROTEINA SOLUBLE	14.6	4.4	18.7	9.1
FIBRA EN DETERGENTE NEUTRO	47.4	9.4	67.9	36.0
FIBRA EN DETERGENTE ACIDO	28.6	5.2	36.0	19.5
CENIZAS	12.4	0.6	12.8	11.9

Fuente: Carulla, J (2013)

Leyva L (2001), en su estudio realizado en alpacas encontró valores promedio para la composición bromatológica del Rye grass en Perú en cuanto a materia seca, proteína cruda, proteína soluble, cenizas (análisis proximal), fibra detergente acida y fibra detergente neutra (paredes celulares), como se reporta en el cuadro3.

Cuadro 3. COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DEL RYE GRASS DE DIFERENTES EDADES

% en base seca	Rye grass 3-4 semanas	Rye grass 7-8 semanas
Humedad	74.67	74.03
Materia seca	25.33	25.97
Proteína	7.04	11
Ext. Etéreo	2.83	3.12
Fibra cruda	16.61	14.08
Extracto libre de nitrógeno	64.48	61.71
Ceniza	8.84	10.09

Fuente: Leyva, L. (2001)

Ochoa, S.*et al* (2014), en su estudio realizado en Colombia para el establecimiento de Rye grass bajo el sistema de labranza cero, reporta los siguientes valores de composición química y paredes celulares (fibra detergente neutra y fibra detergente acida), como se reporta en el Cuadro 4.

Cuadro 4. COMPOSICION NUTRICIONAL DE TRES GENOTIPOS DE RYE GRASS EN COLOMBIA

COMPOSICION QUIMICA	GENOTIPO		
	Hibrido tetraploide	Anual diploide	Anual tetraploide
MS	13,7	12,9	13,8
PB	18,8	18,3	18,9
EE	4,8	4,7	4,6
C	11	11,9	11,4
FDN	41,5	40,8	40,8
FDA	26,7	27	27,9

Fuente: Ochoa, S.*et al* (2014)

Barrera, V *et al.* (2004), en su estudio para el INIAP titulado Manejo del sistema de producción papa-leche en la sierra ecuatoriana: alternativas tecnológicas, reportan valores en el análisis proximal, paredes celulares y digestibilidad de la materia seca para el Rye grass según la época del año, como se reporta en el cuadro 5.

Cuadro 5. COMPOSICION QUIMICA Y VALOR NUTRITIVO DEL RYE GRASS A LOS 60 DIAS DE REBROTE EN EPOCA LLUVIOSA Y SECA

EPOCA DEL AÑO	ANALISIS PROXIMAL						
	PB	FC	EE	ELN	FDN	FDA	DMS
Época lluviosa	17,4	29,5	3,7	44,8	55,2	34,5	71
Época seca	17,7	26,9	1,7	46,2	53,8	34,4	69,5

Fuente: Barrera, V *et al.* (2004)

2. Pasto Azul (Dactylis glomerata)

Según Lindner, R (1994), el dáctilo es menos resistente al invierno y se suele considerar que es más tolerante al calor. No inicia su crecimiento muy pronto en la primavera, pero crecen más rápidamente durante el tiempo frío de esta estación. En este sentido Basantes, A. (1991), afirma que este pasto se da en zonas templadas moderadas, resistentes al frío, se desarrollan en buenas condiciones desde los 1500 a los 3000 m.s.n.m., son plantas perennes, se desarrollan en suelos livianos de fertilidad media, su desarrollo óptimo en suelos francos de buena fertilidad, resistente a las acidez, no se adapta en suelos alcalinos, suelos como en drenaje, pH de 6 a 7, la siembra se puede realizar por línea o al voleo, se siembra en línea separados por 60 cm. y en surcos de 15 a 30 cm., profundidad de siembra de 0.6 a 1.3 cm. con la cantidad de semillas/ha a utilizar se de 15. 5 Kg/Ha.

a. Hábito de crecimiento

Para Bernal, J. (1994), es una planta perenne, de crecimiento robusto, matas individuales en matojos; los tallos florales alcanzan 1,3 m; muchos tallos, hojas

plegadas y vainas comprimidas; inflorescencia conspicua, semejante a una panícula con numerosos racimos de espiguillas reducidas.

b. Características nutricionales

Gualli, M. (2010) reporta una composición bromatológica del pasto azul establecido en la ciudad de Riobamba, probando diferentes niveles de abono foliar (Cuadro 6).

Cuadro 6. COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DEL PASTO AZUL EN LA ÉPOCA DE PREFLORACIÓN.

Determinacion	Testigo	AFC 250g	AFC 500g	AFC 750g
Humedad %	80,20	80,59	80,78	80,57
Materia seca %	19,80	19,41	19,22	19,43
Proteina %	10,69	11,60	11,77	12,70
Extracto etereo %	1,71	1,49	1,89	1,67
Fibra cruda %	28,33	28,42	27,38	27,61
Cenizas %	7,14	7,58	7,23	7,30
Materia organica %	92,86	92,42	92,77	92,70

Fuente: Lab. de Análisis bromatológico de Riobamba SAQMIC. (2012).

AFC. Abono foliar completo

Muñoz, F. (1999) analizó la composición bromatológica, paredes celulares (FDN, FDA, LAD) y digestibilidad in vitro de varios forrajes, entre ellos el pasto azul, durante 3 estaciones en la región de Zaragoza en España, a una altura de 500 msnm.

Los resultados de esta investigación se resumen en el cuadro 7.

Cuadro 7. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD IN VITRO DEL PASTO AZUL EN PRIMAVERA, OTOÑO E INVIERNO.

ESTACION	M Seca	Cenizas	P C	FDN	FDA	LAD	Dig IV
Primavera	53,43	8,71	10,59	65,01	35,63	4,69	57,38
Otoño	29,03	13,59	17,65	59,67	33,27	4,95	57,65
Invierno	35,53	13,54	16,05	54,25	28,8	5,16	66,8

Fuente: Muñoz, F. (1999)

Villa-Méndez C, (2010), en su estudio de tipos de forraje en dos regiones, realizado en la zona del altiplano de Michoacán, México a 1900 msnm, reportó valores para el pasto azul o triguillo (*Dactylis glomerata*) de 1,7 % de EE, 52.1 de FDN, 28,99 de FDA, 12,60 de LAD y 15.43 % de Cenizas.

Lindner, R (1994) en su investigación titulada Evaluación del género *Dactylis* (poaceae) del noroeste de la península ibérica, reporta valores de digestibilidad entre 79,9 y 85,9 para diversos cultivares de pasto azul establecidos en La Coruña, Orense y Pontevedra, entre 0 y 590 msnm.

Acosta, G. *et al.* (2006) reportan valores de proteína bruta para el pasto azul entre 14,8 y 18,8 %, en función de la estación del año y de la edad de rebrote al pastoreo en la provincia de Buenos Aires, Argentina.

Ortega, F. *et al* (2013) realizaron una evaluación de gramíneas forrajeras perennes en el sur de Chile, durante el periodo 2010-2013, entre ellos siete variedades del pasto azul o pasto ovillo, en tres distintas regiones localizadas a 200, 15 y 93 msnm, entre los parámetros evaluados estuvieron la Fibra detergente neutra, la proteína cruda y la digestibilidad in vitro, cuyos resultados se resumen en el Cuadro 8.

Cuadro 8. FIBRA DETERGENTE NEUTRO (FDN), DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* (DIV) Y PROTEÍNA CRUDA (PC) DE VARIEDADES DE PASTO AZUL EN TRES LOCALIDADES DE CHILE.

Cultivar	INIA Carillanca			Pelchuquin			Pelleco		
	FDN	DIV	PC	FDN	DIV	PC	FDN	DIV	PC
Starly	52,6	73,9	12,1	51,9	80	18,3	54,5	69,8	17,4
Vision	54,6	73,8	12,7	50,3	77,4	19,9	55,2	70,2	16,9
Potomac	53,9	71,7	13,3	53,3	77,2	18,4	54,3	66,6	18,2
Athos	49,3	76,9	12,4	52,1	77,6	18,1	52,4	69,6	17,5
Amba	51,2	75,7	12,1	48,6	76,6	20,1	53,3	66,7	17,3
Promedio	53,1	73,3	12,4	51,1	78,0	19,2	53,7	68,9	17,2

Fuente: Ortega, F. *et al* (2013)

González, J.*et al.* (2006), en su investigación titulada "Rendimiento y calidad de forraje del pasto ovillo (*Dactylis glomerata*.) Al variar la frecuencia e intensidad de pastoreo", reportan valores de proteína bruta para el pasto azul entre 15 y 23 %, y de digestibilidad *in vitro* entre 52 y 74 %, en función de la estación del año y de la frecuencia e intensidad de pastoreo en el Campo Experimental del Colegio de Posgraduados en Montecillo, Texcoco, Estado de México a 2,240 msnm.

Al respecto García, B. *et al* (1991), en Salamanca, España, al estudiar la digestibilidad, proteína y producción de varias especies forrajeras reporta un valor medio para el *Dactylis glomerata* de 63,3 % de digestibilidad y 12,7 % de proteína.

Barrera, V *et al.* (2004), en su estudio titulado "Manejo del sistema de producción papa-leche en la sierra ecuatoriana: alternativas tecnológicas", reportan valores promedio en el análisis proximal, paredes celulares y digestibilidad de la materia seca para el pasto azul en nuestro país, según la época del año, como se reporta en el cuadro 9.

Cuadro 9. COMPOSICION QUIMICA Y VALOR NUTRITIVO DEL PASTO AZUL A LOS 60 DIAS DE REBROTE EN EPOCA LLUVIOSA Y SECA

EPOCA DEL AÑO	ANALISIS PROXIMAL						
	PB	FC	EE	ELN	FDN	FDA	DMS
Época lluviosa	15,7	28,4	4,7	37,2	62,8	36	73,6
Época seca	13,8	23,9	4,7	43,2	56,5	35	68,4

Fuente: Barrera, V *et al.* (2004)

B. PISOS CLIMATICOS EN EL ECUADOR

Tello (2012), sostiene que los pisos climáticos son también llamados pisos térmicos, pisos bióticos o pisos ecológicos dependiendo de los factores que se tomen en cuenta. En las zonas intertropicales el relieve forma un modificador del clima. Existen lugares por ejemplo en los cuales no varía la temperatura sino que también se hacen participe variaciones de la humedad, los efectos del viento y sobre todo la presión atmosférica. El concepto de pisos climáticos se prefiere para estudiar la altitud en zonas intertropicales. Podemos utilizar el concepto de pisos bióticos o pisos ecológicos para enfatizar la interrelación entre el medio ambiente y los seres vivos, tomando en cuenta la altitud del relieve como uno de sus elementos.

Tello (2012) clasifica los diversos pisos climáticos en Ecuador, como se detalla a continuación:

1. Región Sur y Centro de la Costa Ecuatoriana

1.1. Costa

2. Región Norte de la Costa Ecuatoriana

2.1. Costa

3. Región Interandina

3.1. Glaciar

- 3.2. Páramo
- 3.3. Templado
- 3.4. Subtropical
- 3.5. Tropical Interandino
- 4. Región Oriental
 - 4.1. Hilea Amazónica
- 5. Región Insular del Archipiélago de Galápagos
 - 5.1. Desértico
 - 5.2. Tropical
 - 5.3. Templado
 - 5.4. Frío

1. Templado (2500 – 3200 msnm)

Según Groot, J *et al.*, (2003), el templado, con una temperatura de 17 °C, se sitúa en los lugares que van desde los 2 500 hasta los 3 200 m. Se caracteriza este eslabón climático por tener lluvias abundantes, granizadas frecuentes, ambiente nublado y por ser el más poblado. Aquí se asientan algunas ciudades, como Tulcán, Latacunga, Riobamba. A esta altitud encontramos pastos como:

- Rye grass italiano
- Rye grass inglés
- Pasto azul
- Trébol blanco
- Trébol rojo

En la Sierra la temperatura media oscila entre los 7°C y los 21°C, ya que es característica de la región la existencia de temperaturas extremas y su variación durante un mismo día, así se pueden tener días muy calientes, tardes lluviosas y

noches frías. La estación de lluvias o invierno dura de octubre a mayo y el verano de junio a octubre. El clima de la Sierra es muy variado, debido a la presencia de la cordillera de los Andes y a los vientos que soplan por los valles y llanuras. En esta región se localizan los siguientes climas, conocidos como pisos o escalones climáticos: tropical andino, subtropical andino, templado, frío y glacial (Groot, J. *et al.* 2003).

2. Factores que afectan en la composición nutricional de las fuentes fibrosas

Aguilar, M. (1998), en su investigación, corrobora que la calidad de hojas y tallos se reduce con las altas temperaturas y que la temperatura está ligada a la altura. La calidad de las hojas se reduce como resultado de la lignificación de la nervadura central, la cual contiene el mayor porcentaje de lignina. Hay diferencias entre especies en el grado de lignificación como consecuencia de la temperatura.

Aguilar, M. (1998), describe el estudio que se llevó a cabo en tres alturas: 25, 800 y 1650 msnm en Honduras, con el objetivo de determinar el efecto de la temperatura sobre la producción y el valor nutricional de dos forrajes tropicales. Los pastos se sembraron en maceteros con un suelo obtenido de los potreros de Zamorano mezclado con estiércol y una vez establecidos se trasladaron a los tres lugares. Los cortes se realizaron cada 21 días y se fertilizó después de cada corte. Como conclusión se obtuvo que en ambos pastos la producción de materia seca aumenta a medida que aumenta la temperatura; el contenido de PC aumenta cuando disminuye la temperatura y el contenido de FND y FAD disminuye cuando disminuye la temperatura.

Groot, J *et al.*, (2003), afirma que la composición química de las plantas y en consecuencia su valor nutritivo, es el resultado del proceso fotosintético y su distribución a los diferentes tejidos que componen la misma. Esta distribución entre fuentes metabólicas, reservas y parte estructural es de vital importancia en el estado vegetativo. El componente estructural lignificado no está disponible y por lo

tanto puede ser considerado como una fuente de energía irrecuperable. Las semillas, por ejemplo, producidas en la madurez, son una fuente disponible de energía. El valor nutritivo está generalmente ligado a la parte aérea de la planta, donde los nutrientes están potencialmente disponibles, dado que la pared celular está incompleta y la disponibilidad varían de acuerdo al grado de lignificación (Groot, J *et al.*, 2003).

Cambios estacionales en el clima de una región, causan variaciones en la composición del forraje y su valor nutritivo. Esta asociación, composición y valor nutritivo, es la base a usar en sistemas que predicen la digestibilidad del forraje basada en su composición. Ecuaciones basadas en el valor de la fibra no tienen en cuenta variaciones regionales o las diferencias en la calidad del forraje en diferentes regiones (Groot, J *et al.* 2003).

Para poder explicar los efectos del clima y de las estaciones en la calidad del forraje es necesario saber las consecuencias de la temperatura, luz, altitud, latitud, suelo afectan la composición (Groot, J *et al.* 2003).

a. Temperatura

Baja digestibilidad en altas temperaturas es el resultado de la combinación de dos efectos principales. Altas temperaturas ambientales traen como consecuencia el incremento en la lignificación de la pared celular de las plantas. Altas temperaturas al mismo tiempo, aceleran la actividad metabólica, la cual a su vez, reduce el contenido de metabolitos, del contenido celular. Por otro lado, debemos recordar que los productos generados en la fotosíntesis, son rápidamente convertidos en componentes estructurales. Esta actividad reduce nitratos, proteínas, carbohidratos solubles e incrementa los componentes de la estructura de la pared celular. Los procesos enzimáticos asociados con la biosíntesis de la lignina son también incrementados por la temperatura. Los efectos de la temperatura parecen actuar en forma uniforme en todas las especies, aunque efectos, cuantitativos de

la temperatura sobre la calidad del forraje varía entre los diferentes componentes de la planta y especies (Groot, J *et al.* 2003).

El comportamiento de las leguminosas es característico de plantas en que sus hojas no poseen función estructural. Por tanto las hojas manifiestan pequeños cambios en la digestibilidad con relación al aumento de la temperatura, sin embargo los tallos se lignifican consecuentemente con una reducción en la digestibilidad al incrementarse la temperatura del medio ambiente. Este proceso es balanceado por la estable digestibilidad de sus hojas y por un ligero incremento en la relación hoja: tallo. Por lo tanto, ambientes más cálidos amplían el rango de variación entre las partes más y menos digestibles en una misma planta. La digestibilidad en las plantas forrajeras se reduce al aumentar la temperatura puesto que el proceso de madurez es más veloz (Groot, J *et al.* 2003).

En gramíneas, la calidad de hojas y tallos se reduce con la temperatura, siendo el efecto más pronunciado en gramíneas tropicales. Dado que los tallos sufren el mismo proceso con el aumento de la temperatura ambiente, esto trae como resultado una reducción total en la calidad de la gramínea. Altas temperaturas provocan una disparidad en calidad entre los componentes de la planta. Este por lo tanto es un factor muy importante a ser utilizado en los procesos de selección (Tello, 2012).

Villalobos (2006), afirma que los pastos de origen templado (C3) predominantemente acumulan fructosanos como carbohidratos de reserva, mientras los de origen tropical (C4), y todas las leguminosas, predominantemente acumulan almidón. Según Barrera, V. (2004) una característica inusual en los C3, no compartida con los C4, es su síntesis de fructosano (polímero de fructosa) como carbohidrato de reserva, su almacenamiento se incrementa por factores que reducen la utilización del carbono (como con temperaturas frías asociadas con la altura) y también por factores que incrementan la fijación del mismo. El fructosano es además digerido muy eficientemente por los rumiantes

La planta que crece en un ambiente frío no dispone de muchas reservas en su medio, por lo que sacrifica sus estructuras de resistencia y favorece los depósitos de reserva, ya que de otra manera no podrían sobrevivir a las heladas. Por otro lado en el trópico donde no hay heladas, hay menos necesidad de esas reservas y más problemas por depredadores, plagas y enfermedades, por lo que las plantas de clima tropical para poder sobrevivir, invierten sus reservas en estructuras de resistencia (Van Soest, 1994).

Un estudio de regresión realizado por Deinum *et al*, (1968), citado por Tello, (2012), muestra una reducción en media unidad digestible por cada grado de temperatura que aumenta, cuando luz, edad, madurez, y fertilización fueron controladas.

b. Efecto de la luz y de la longitud del día

La energía que posibilita la vida de la gran mayoría de los seres vivos en la tierra procede directa o indirectamente del sol, a través del proceso fotosintético. Varios parámetros forman parte del proceso, incluyendo la cantidad total de luz recibida, su intensidad y la duración del día. La eficiencia fotosintética es baja. Solamente entre el 1 - 3% del total de energía recibida es fijada por el proceso de fotosíntesis. El producto final del proceso fotosintético es glucosa. A mayor incremento lumínico se promueve la acumulación de azúcares y el metabolismo del nitrógeno. Los nitratos requieren energía fotosintética para su reducción en amoníaco y la síntesis de aminoácidos. Por lo tanto, aumentando la intensidad de la luz se promueve la reducción hasta el nivel de nitratos. Los componentes de la pared celular se reducen al aumentar la luz, probablemente a través de la dilución de carbohidratos no estructurales, aminoácidos y los ácidos orgánicos formados. La intensidad de la luz está influenciada por la incidencia angular del sol, que a su vez decrece con la latitud. Luz neta es el producto de la duración del día y la incidencia solar. Cielo cubierto y sombra, afectan la cantidad de luz que reciben las plantas y en consecuencia tienden a reducir el valor nutritivo de los forrajes. La acumulación de nitratos en el forraje se maximiza en regiones frías con nubosidad, que a su vez,

reduce la fotosíntesis y en consecuencia una reducción de nitratos en aminoácidos (Groot, J *et al.* 2003).

La humedad promueve el desarrollo de las plantas y reduce la calidad del forraje. Tiempo nublado y húmedo interactúan para producir forrajes de baja calidad. Pocos estudios han sido realizados para estimar el efecto del fotoperíodo en la calidad y digestibilidad de los forrajes. Largos periodos de oscuridad probablemente reducen la calidad del forraje porque en parte los nutrientes son movilizados, pero ninguno de ellos es producido. Dado que el crecimiento máximo ocurre en primavera-verano, plantas fotosintetizantes están adaptadas a ciclos de días largos y noche corta. Plantas tropicales están sujetas a largos y variables periodos oscuros (Groot, J *et al.* 2003).

c. Latitud

La tasa de digestibilidad está relacionada con la latitud. Esta, muestra una relación inversa con la temperatura del medio ambiente y la longitud del día. Días largos y bajas temperaturas están asociados con altas latitudes, y probablemente interactúan para aumentar y/o reducir el valor nutritivo con la edad. Dado que estos factores tienen efectos balanceados, la temperatura será dominante en latitudes tropicales y templadas y generalmente en regiones con clima continental. La longitud del día tendrá efecto preponderante en altas latitudes así como en regiones templadas con clima marítimo. La digestibilidad máxima en pasturas templadas muestra pocos cambios con respecto a latitud porque una vez que finaliza el periodo de heladas, se inicia un periodo de crecimiento continuo. Forrajes tropicales reducen su digestibilidad en latitudes menores, debido en parte a las condiciones de altas temperaturas, los cuales generalmente siguen a periodos secos (Groot, J *et al.* 2003).

d. Suelo

Plantas que crecen en diferentes tipos de suelo están expuestas a diferente balance de nutrientes, que a su vez afectan el crecimiento y la composición de los forrajes. Los efectos del suelo en las plantas son en teoría semejante al efecto de los fertilizantes. El efecto del suelo puede ser estudiado desde dos puntos de vista: una que es la acumulación de minerales en la planta y otro que es la influencia de los minerales en el contenido de materia orgánica, rendimiento, composición y digestibilidad (Groot, J *et al.* 2003).

e. Altitud

En las plantas leguminosas y gramíneas de clima templado, el primer producto de la fotosíntesis es un compuesto de tres carbonos, este tipo de mecanismo suele llamarse metabolismo fotosintético C₃, mediante el cual, la fijación de CO₂ depende de una serie de reacciones que implican la pérdida de carbono y energía; este proceso se denomina fotorespiración. Bajo condiciones de alta temperatura y baja disponibilidad de agua, las plantas C₃ son menos eficientes en términos fotosintéticos, que especies tropicales como el maíz, la caña de azúcar o el sorgo, que producen compuestos de cuatro carbonos (C₄), y usan mecanismos de fijación del CO₂ que evitan la fotorespiración (López, R. *et al.* 1999).

López, R. *et al.* (1999), estudio el efecto de la altitud sobre el comportamiento fotosintético de la hoja del cafeto a 1100, 1400 y 1900 msnm y encontró mejores resultados en las variables bajo estudio mientras mayor fue la altura.

C. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DIGESTIVA DEL CUY

1. Anatomía y fisiología digestiva de los monogástricos

El cuy (*Cavia porcellus*) está clasificado por su anatomía gastrointestinal como un animal de fermentación postgástrica junto con el conejo y la rata (Van Soest, 1994); su comportamiento nutricional se asemeja, de adulto, más a un poligástrico con procesos de fermentación mixta y capacidad degradadora de celulosa, que a un monogástrico estricto (Aguilar 1998); es decir, el cuy es considerado como una especie herbívora monogástrica, que posee un estómago simple (Chauca 1997), por donde pasa rápidamente la ingesta, ocurriendo allí y en el intestino delgado la absorción de aminoácidos, azúcares, grasas, vitaminas y algunos minerales en un lapso de dos horas, tiempo menor al detectado en conejos; por lo que se infiere que el cuy digiere proteínas y lípidos 4 a 19% menos que el conejo (Rigoni *et al.*, 1993; citado por Chauca, 1997). Sin embargo el pasaje del bolo alimenticio por el ciego es más lento, pudiendo permanecer en él parcialmente por 48 horas; de la acción de este órgano depende la composición de la ración, además se sabe que la celulosa en la dieta retarda los movimientos del contenido intestinal permitiendo una mayor eficiencia en la absorción de nutrientes; siendo en el ciego e intestino grueso donde se realiza la absorción de los ácidos grasos de cadenas cortas (Chauca, 1997).

El cuy, especie herbívora monogástrica, tiene un estómago donde inicia su digestión enzimática y un ciego funcional donde se realiza la fermentación bacteriana; su mayor o menor actividad depende de la composición de la ración. Realiza cecotrofia para reutilizar el nitrógeno, lo que permite un buen comportamiento productivo con raciones de niveles bajos o medios de proteína (Chauca, 1997).

El cuy está clasificado según su anatomía gastrointestinal como fermentador postgástrico debido a los microorganismos que posee a nivel del ciego. El movimiento de la ingesta a través del estómago e intestino delgado es rápido, no demora más

de dos horas en llegar la mayor parte de la ingesta al ciego (Gómez y Vergara, 1993).

La flora bacteriana existente en el ciego permite un buen aprovechamiento de la fibra (Gómez y Vergara, 1993). La producción de ácidos grasos volátiles, síntesis de proteína microbial y vitaminas del complejo B la realizan microorganismos, en su mayoría bacterias gram-positivas, que pueden contribuir a cubrir sus requerimientos nutricionales por la reutilización del nitrógeno través de la cecotrófia, que consiste en la ingestión de las cagarrutas (Holstenius y Bjornhag, 1985; citado por Caballero, 1992).

a. Metabolismo del ciego

El ciego de los cuyes es menos eficiente que el rumen debido a que los microorganismos se multiplican en un punto que sobrepasa al de la acción de las enzimas proteolíticas. A pesar de que el tiempo de multiplicación de los microorganismos del ciego es mayor que la retención del alimento, esta especie lo resuelve por mecanismos que aumentan su permanencia y en consecuencia la utilización de la digesta (Gómez y Vergara, 1993).

El ciego es un órgano grande que constituye cerca del 15% del peso total del aparato digestivo (Chauca, 1997), es el sitio principal de digestión microbiana en el intestino grueso de roedores y lagomorfos; el movimiento retrógrado del contenido desde la porción proximal del colon hasta el ciego es un medio de retrasar el tránsito. Comparado con el conejo, el ciego del cuy es mucho más especializado, siendo su capacidad fermentativa 13% mayor, por lo que utiliza 23% más de fibra (Rigoni *et al.*, 1993; citado por Chauca, 1997), ayudado también por una mayor capacidad de modificar las características de la excreta (Cuadro 10).

Cuadro 10. CAPACIDAD FERMENTATIVA EN PORCENTAJE DEL TOTAL DEL TRACTO DIGESTIVO

Especie	Retículo rumen	Ciego	Colon recto	y Total
Vacuno	64	5	58	75
Ovino	71	8	4	83
Caballo	-	15	54	69
Cerdo	-	15	54	69
Cuy	-	46	20	66
Conejo	-	43	8	51
Gato	-	-	16	16

*Fuente: (Parra, 1978; citado por Gómez y Vergara, 1993).

En términos de masa y capacidad, el ciego abarca aproximadamente el 40% del tracto gastrointestinal. Es el mayor sitio de fermentación y degradación de los componentes fibrosos de la dieta a través de la fermentación anaeróbica. Presenta ciertas particularidades tales como la secreción del apéndice cecal y una alta movilidad circadiana de llenado y vaciado asociada con el mecanismo de la cecotrófia (Gidenne, 1997).

Aunque existe cierta similitud con el retículo-rumen de rumiantes, la población bacteriana en el contenido cecal es menor, dominan los bacilos no esporulados gram negativos y, bajo condiciones normales de alimentación, prácticamente no se detectan lactobacilos. Tampoco se ha demostrado la existencia de protozoos, probablemente debido a la falta de sustratos adecuados (almidón y azúcares solubles) para su establecimiento. La actividad enzimática de la flora bacteriana presente en el ciego es principalmente pectinolítica, seguida por enzimas del tipo hemicelulolíticas y celulolíticas. Las enzimas del tipo xilanolíticas, proteolíticas y aminolíticas se encuentran en menor cantidad (Gidenne, 1997).

Comparada con la actividad enzimática de los microorganismos ruminales, la actividad fibrolítica de las bacterias del ciego de los conejos es más baja, pero la

actividad proteolítica y aminolítica es más alta. Sin embargo, en términos de magnitud, esta capacidad es notablemente inferior a la de los rumiantes e incluso a la de otros herbívoros que presentan fermentación cecal, como el caballo. Estas diferencias se atribuyen al corto tiempo de permanencia de la digesta en el ciego y a los movimientos específicos del íleon distal y colon proximal que impiden la entrada de las partículas fibrosas de mayor tamaño al ciego (De Blas y Wiseman, 1998).

La formación de ácidos grasos volátiles (AGV), como resultado de la actividad fermentativa, contribuye a satisfacer las necesidades energéticas del animal, en una proporción variable según la cantidad y tipo de fibra que contiene la dieta. Algunas estimaciones indican que los AGV producidos pueden ser del orden del 30% del metabolismo basal (Gidenne, 1997). Todos los AGV pueden ser metabolizados en la mucosa intestinal y el ácido butírico parece ser el que suministra energía de manera preferente a las células de la mucosa del ciego y colon. Una mayor producción de AGV favorece el crecimiento de la mucosa, ejerciendo cierta protección contra la adhesión de microorganismos patógenos, y por tanto previendo la incidencia de diarreas (Carabaño *et al.*, 1988).

Las proporciones relativas de los distintos AGV's en el contenido cecal son de 60-80% de acético, 8-20% de butírico y 3-10% de propiónico y este patrón es específico para la flora del ciego independientemente de la composición del sustrato fermentado (Gidenne, 1997). La elevada proporción de butírico parece tener un papel regulador de la velocidad de paso, inhibiendo los movimientos peristálticos del intestino y aumentando el tiempo de retención de la digesta en el tracto posterior. La presencia de digesta por tiempos prolongados puede dar lugar a fermentaciones indeseables y a alteraciones digestivas, razón por la cual no se recomienda suministrar dietas con una baja relación fibra/almidón (Gidenne, 1997).

D. COMPOSICION QUIMICA DE LOS ALIMENTOS

1. Análisis proximal, esquema de Weende o análisis inmediato de los alimentos

El propósito principal de un análisis proximal es determinar, en un alimento, el contenido de humedad, grasa, proteína y cenizas. Este método se desarrolló debido a que la eficacia del valor de la alimentación de los animales domésticos mucho depende de la composición química de los alimentos que ingieren. En la práctica de la alimentación de los animales se utiliza gran variedad de alimentos, especialmente pastos, forrajes (cerca de 1000) y todos ellos difieren entre sí por la composición química (McDonald 1995).

Este sistema ha sido criticado, pero a la fecha no se ha desarrollado otro mejor y que sea práctico y tan aceptable. Muchos críticos objetan especialmente la porción de fibra que es altamente empírica. Quizá el principal motivo por el cual no se haya podido encontrar un método que lo sustituya es por la naturaleza compleja de la fibra, de ahí es que todavía sigue en uso la determinación de la fibra por el sistema Weende como constituyente del análisis proximal (McDonald 1995).

Este método es proximal porque no determina sustancias químicamente definibles, sino que asocia combinaciones orgánicas que responden a determinadas reacciones analíticas. Por ello se habla de grupos nutritivos que son:

- a) Agua ó materia seca (MS),
- b) Extracto Etéreo (EE),
- c) Proteína Cruda (PC),
- d) Cenizas,
- e) Fibra cruda (FC) y
- f) Extracto no Nitrogenado (ENN)

2. Análisis de Van Soest

El fraccionamiento de Van Soest hace posible medir el contenido total de la pared celular y el contenido ligno celulósico de los forrajes. En particular la determinación de la Fibra detergente acida (FDA), permite la evaluación de prácticamente toda la celulosa y lignina (Ribeiro, J. 2000).

Para predecir la digestibilidad de los forrajes es necesario establecer relaciones diferentes, por lo menos para gramíneas y leguminosas, ya que para el mismo contenido de lignina, las leguminosas tienen menos material de paredes celulares indigestibles y más alta digestibilidad que las gramíneas (Ribeiro, J. 2000).

El concepto de fibra bruta es muy impreciso, motivo por el cual Van Soest desarrolló las técnicas con detergentes que separan la célula vegetal en dos fracciones:

- Fibra Acido Detergente (FAD), es la parte de las paredes celulares formada fundamentalmente por celulosa y lignina.
- Fibra Neutro Detergente (FND), genéricamente comprende todos los constituyentes de la pared celular, es decir, la fracción FAD más la hemicelulosa.

a. Esquema de Van Soest para fraccionar las Paredes Celulares

FDN	=	Separación de las paredes celulares del contenido celular
FDA	=	Separación de la celulosa y lignina de las paredes celulares
FDN-FDA	=	Determinación por diferencia del % de Hemicelulosa
LDA	=	Determinación del porcentaje de lignina
FDA-LDA	=	Determinación por diferencia del % de celulosa

Fuente: Van Soest (1994)

E. DIGESTIBILIDAD

El término digestibilidad es normalmente tomado para indicar que los nutrientes o sustancias afines son absorbidos del tracto digestivo una vez atacados por algún enzima digestivo o desintegrados por la microflora. En consecuencia, el término digestión, como ordinariamente se emplea, implica digestión y absorción (Crampton y Harris, 1974; citado por Sánchez 2009).

La digestibilidad de un alimento es eficiente cuando este no es excretado por las heces y que se supone por lo tanto que es absorbido. Por lo general esta fracción absorbida se representa con el cálculo del coeficiente de digestibilidad, el mismo que expresa el porcentaje asimilable de los principios nutritivos de un alimento (McDonald, 1995; citado por Sánchez 2009).

El valor nutricional de una ración, un alimento o un nutriente puede ser expresado mediante el coeficiente de digestibilidad (CD), que corresponde a la fracción de las sustancias ingeridas que no son excretadas (Ciria, 1995; *citado* por Sánchez 2009).

Según Saucedo (2002), la digestibilidad comprende todos los procesos que sufren los alimentos en el tracto digestivo, desde la masticación y la mezcla de los alimentos con la saliva en la boca, digestión, descomposición química y la absorción de nutrientes, así como la expulsión de los materiales no digeridos a través del ano.

La digestión es el proceso fisiológico por el cual se inicia la utilización de los alimentos por los animales. Comprende tres fases: Formación de nutrientes a partir de los principios inmediatos, absorción de nutrientes desde el tubo digestivo a la sangre y expulsión de las heces, constituidas fundamentalmente por los residuos no digeridos del alimento (De Blas *et al.*, 1998).

Saucedo (2002), indica que los coeficientes de digestión no son constantes para un alimento dado ni para una especie dada, pues son fluidos por factores

variables. También la fibra bruta protege en algún grado a los otros principios contra la digestión.

La digestibilidad de los alimentos puede ser estimada por métodos que simulen el proceso de digestión; los métodos *in vitro* para estimaciones a nivel de laboratorio de la degradación de los alimentos son importantes para los nutricionistas. Un eficiente método de laboratorio debe ser aplicable y se debe correlacionar bien con los parámetros de medición *in vivo*. Los métodos *in vitro* tienen la ventaja no solo de ser menos costosos y demorados, sino que permiten mantener las condiciones experimentales más precisas que en los ensayos realizados *in vivo* (De Blas *et al.*, 1998).

Cardona M (2001) afirma que el análisis bromatológico solo del follaje de una planta no refleja el comportamiento de este en el cuerpo del animal. Para ello, es necesario tener un conocimiento de cada uno de sus componentes y su interacción con el tracto gastrointestinal, como la digestibilidad, composición de la fracción fibrosa, proteica y factores antinutricionales (FAN).

1. Investigaciones sobre digestibilidad

Torres, G. *et al.* (2009), utilizaron cuatro forrajes en la Estación Experimental IVITA - El Mantaro, Junín para comparar los métodos *in situ*, *in vitro* e *in vitro* celulasa en la estimación de la digestibilidad aparente en ovinos. Los forrajes, en función a su calidad nutricional, fueron el Rye grass de 2-4 semanas (alta calidad; 20.9% de proteína cruda PC), Rye grass de 8 semanas (mediana calidad; 16.9% PC), heno de alfalfa (mediana calidad) y paja de avena (baja calidad; 4.9%PC).

En cuanto al Rye grass de 4 semanas esta investigación reporta 73.9, 76.5 y 91.8 en la digestibilidad *in vitro*, celulasa, e *in situ* respectivamente; y de 71.6, 70.9 y 74.2 para el Rye grass de 8 semanas.

Leyva L. et al. 2001 en su investigación para determinar la digestibilidad in vitro en alpacas utilizando diferentes proporciones de saliva artificial y flora microbiana reporta valores para el Rye grass de 3 a 4 semanas entre 84,36 y 87, 22, mientras que para el Rye grass de 7 a 8 semanas el rango fue de 79,1 a 86,5 % de digestibilidad aparente.

Arce, C. et al 2003., realizaron un estudio para estandarizar un método enzimático para medir la digestibilidad de forrajes empleando la enzima celulasa proveniente del hongo *Penicillium funiculosum* compararlo con el método de digestibilidad in vitro de Tilley y Terry. La digestibilidad aparente del pasto azul fue de 74,3 y 75,9 mediante el método enzimático (celulasa) e in vitro, respectivamente, y de 82,08 y 84,03 % en el Rye grass.

González, J. et al. (2006), en su investigación titulada "Rendimiento y calidad de forraje del pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) al variar la frecuencia e intensidad de pastoreo", reportan valores de proteína bruta para el pasto azul entre 15 y 23 %, y de digestibilidad in vitro entre 52 y 74 %, en función de la estación del año y de la frecuencia e intensidad de pastoreo en el Campo Experimental del Colegio de Posgraduados en Montecillo, Texcoco, Estado de México a 2,240 msnm. Al respecto García, B. et al (1991), en Salamanca, España, al estudiar la digestibilidad, proteína y producción de varias especies forrajeras reporta un valor medio para el *Dactylis glomerata* de 63,3 % de digestibilidad.

Lindner, R (1994) en su investigación titulada Evaluación del genero *Dactylis* (poaceae) del noroeste de la península ibérica, reporta valores de digestibilidad entre 79,9 y 85,9 para diversos cultivares de pasto azul establecidos en La Coruña, Orense y Pontevedra, entre 0 y 590 msnm.

Ortega, F. et al (2013) realizaron una evaluación de gramíneas forrajeras perennes en el sur de Chile, durante el periodo 2010-2013, entre ellos siete variedades del pasto azul o pasto ovillo, en tres distintas regiones localizadas a 200, 15 y 93 msnm, entre los parámetros evaluados estuvo la digestibilidad in vitro, con valores entre 68,9 y 78 %.

Acosta, E. *et al.* (2005), reporta una digestibilidad de 83,9 para el Rye grass a través del método in vivo en novillos Holstein, en su investigación comparando el valor alimenticio del kikuyo versus el Rye grass en dos estaciones de crecimiento, en Mexicali, Baja California, México a una altitud de 12 msnm.

2. Métodos para el estudio de la digestibilidad en conejos.

Según Dihigo, L. (2007) en las técnicas para determinar la producción del ganado es necesario determinar el consumo y digestibilidad de los nutrientes. Lo que expresa el por ciento en que se encuentran los nutrientes y su utilización del total de los alimentos ingeridos por los animales, un buen indicador de su aporte energético si se considera el segmento del TGI donde se recolecta la digesta (Cuadro 11). En la actualidad, se estudia la digestibilidad total e ileal cuando sus determinaciones son por el recto e íleon del animal respectivamente y para el conejo por sus características especiales se incluye la digestibilidad cecal (Carabaño. 1992).

Cuadro 11. EFECTO DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD FECAL DE NUTRIENTES EN DIETAS PARA CONEJOS

	Método		Probabilidad	Error standar
	Directo	Indirecto		
Materia seca	57,62	57,84	0,35 ns	0,75
Materia organica	59,97	60,21	0,31 ns	0,77
Energia bruta	58,85	59,05	0,31 ns	0,89
Proteina cruda	71,03	71,15	0,18 ns	0,69
FDN	35,40	35,82	0,43 ns	1,37
FDA	17,95	18,69	0,46 ns	2,44
Hemicelulosa	52,11	52,56	0,37 ns	1,55

Fuente: Nieves, D. (2008).

Estas determinaciones son aparentes si no se tienen en cuenta las secreciones endógenas (digestibilidad verdadera)

Los métodos más utilizados en estos estudios son:

- Métodos *in vivo*
 - Recolección total de las heces
 - Uso de marcadores
 - El empleo de técnicas quirúrgicas
 - El uso de técnicas de sacrificio.
- Métodos *in situ*
- Método *in vitro*

Nieves, D. (2008) reporta que los resultados de su estudio titulado: “Digestibilidad fecal de nutrientes en dietas con forrajes tropicales en conejos. Comparación entre métodos directo e indirecto.” concuerdan con los informados anteriormente y permiten confirmar que la digestibilidad fecal de nutrientes en conejos puede determinarse indistintamente por el método de colección total o mediante el método ceniza ácido insoluble. Es decir, se puede proponer que el método ceniza ácido insoluble y métodos *in vitro* en general, podrían ser usados de forma alternativa para sustituir el método de colección total, como una manera confiable, económica y práctica para estimar digestibilidad de nutrientes en dietas para conejos.

Con este método se puede aplicar alojamiento más confortable, que genera mediciones más confiables sobre la productividad de los animales y está en concordancia con las actuales consideraciones sobre bienestar animal (Aparicio *et al.*, 2005). Por otra parte, el uso de la ceniza ácido insoluble en estudios de digestibilidad es fácil y sencillo, el procedimiento de análisis no requiere de equipos y reactivos costosos, aunque exige la adquisición de elevado grado de precisión y destreza durante el filtrado.

Dihigo *et al.* (2004) evaluaron plantas forrajeras predigeridas in vitro utilizando inóculo de conejo. La baja digestibilidad de materia seca de *Vigna unguiculata* se lo adjudican en mayor parte a su baja digestibilidad de FDN. Al parecer la *Vigna unguiculata* tiene la proteína muy ligada a su fibra, lo que dificulta el ataque de enzimas, principalmente de proteasas (Dihigo *et al.*; 2002 citado por Dihigo, 2004) o la presencia de otras sustancias que interfieren en la digestibilidad de nutrientes, como son los compuestos fenólicos (Delgado *et al.*; 1998 citado por Dihigo, 2004). Estos disminuyen en la producción de NH₃ factor que limita el crecimiento de las bacterias y la digestión de la fibra cecal (García *et al.*; citado por Dihigo, 2004) afectando así el grado de digestibilidad de esta fuente por los microorganismos presentes en el ciego (Cuadro 12).

Cuadro 12. VALORES DE DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MS, FDN E INDICADORES DE FERMENTACIÓN IN VITRO DE CINCO PLANTAS FORRAJERAS TROPICALES EN CONEJOS.

Indicadores	<i>T. gigantea</i>	<i>L. dulcis</i>	<i>N. weigtii</i>	<i>V. unguiculata</i>	<i>S. sinenae</i>
MS %	51,60	49,04	41,39	36,49	42,89
FDN %	39,91	38,45	32,32	13,49	31,98
AGCCtmmol/L	109,88	145,35	118,15	90,21	91,04
Propiónico %	10,27	6,33	6,33	8,11	8,26
Ph	6,50	5,64	6,47	6,69	6,74

Fuente: Dihigo *et al.*, 2007

a. Digestibilidad método del licor cecal

La técnica utilizada en esta investigación se fundamenta en el uso del contenido cecal de cuy que simula la acción fermentativa de los microorganismos existentes en el ciego del animal sobre los alimentos que sean objeto del análisis y con la

simulación de las condiciones de pH y temperatura a las cuales estas enzimas realizan su acción dentro del animal, lo que permitirá obtener datos comparativos para establecer conclusiones y obtener resultados sobre la digestibilidad del alimento (Pascual J. 2000).

Pascual J. (2000) sostiene que la evaluación de los alimentos es frecuentemente desarrollada a través de costosos experimentos, basados en la determinación in vivo, los cuales requieren animales y una cantidad relativamente grande de alimento. Otros métodos han sido desarrollados para estimar el valor nutritivo de alimentos para conejos utilizando técnicas más fáciles, sencillas y económicas. Es así que si bien la predicción de la digestibilidad de los nutrientes a través de la composición química ha probado ser valiosa en conejos, las técnicas in vitro que simulan los procesos digestivos, y más recientemente la determinación del valor nutritivo a través del método NIRS, aparecen como técnicas más precisas. Es por eso que realizo la comparación de tres diferentes métodos in vitro en conejos para determinar la digestibilidad aparente en conejos: multienzimático, cecal y fecal, obteniendo los resultados que se resumen en el Cuadro 13.

Cuadro 13. EFECTO DEL MÉTODO Y LA REPETICIÓN EN LOS VALORES DE DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MS POR EL METODO CECAL Y FECAL DE VARIOS PIENSOS EVALUADOS

INGREDIENTES	METODO		
	Multienzimático	Cecal	Fecal
Torta de aceite de oliva	36,4	26,3	25,77
Heno	44,7	35,09	35,42
Heno de alfalfa	59,64	39,9	39,8
Maíz 33 %, Alfalfa 66%	70,11	46,87	40,9

Fuente: Pascual J. (2000)

F. FIBRA DIETARIA

Dihigo, L. (2007), la define como un remanente del esqueleto de la pared celular de las plantas en la dieta, que son resistentes a la hidrólisis de las enzimas digestivas del hombre. Marrero (1997) la define como una entidad química muy heterogénea, cuyos componentes son resistentes a la actividad de las enzimas digestivas del tracto gastrointestinal.

Se cree que Hipsley, en 1953, fue el primer investigador que aplicó el término fibra alimentaria para describir los constituyentes no digeribles que forman la pared celular vegetal (Dihigo 2007).

Savón, L. (2002), afirma que se puede considerar que las paredes celulares de las plantas son las fuentes principales de consumo de fibra dietética en la mayoría de los alimentos. Esto permite definir la fibra desde el punto de vista nutricional como una fracción heterogénea cuyos componentes son resistentes a la actividad enzimática del tracto gastrointestinal, entre ellos se destacan cinco componentes mayoritarios: los polisacáridos estructurales que constituyen las paredes celulares de los vegetales que son los homopolisacáridos (celulosa) y los heteropolisacáridos (hemicelulosa y pectina) que forman los carbohidratos insolubles llamados polisacáridos no almidones, las gomas (polisacáridos de reserva) y la lignina, compuesto fenólico que une los grupos anteriores. También se hallan presentes alginatos, xiloglucanos, dextrana, inulina, glucanos y polisacáridos no sintéticos, así como pequeñas cantidades de proteína, polifenoles de alto peso molecular, cutinas, ácido fítico y almidón resistente (Savón, L. 2002).

Es importante tener en cuenta que la fibra dietética no es una simple suma de compuestos aislados, sino que es una unidad biológica. Según el tipo de planta o alimento, variará la presencia o proporción en que éstos se combinan entre sí con sus propiedades intrínsecas que a la vez influirán de manera importante en la fisiología digestiva de los animales (Savón, L. 2002).

Aparicio, I. (2008), describe que la fibra alimentaria es una compleja mezcla de polímeros de carbohidratos que están asociados a otros componentes no-carbohidratos. Consiste en el residuo vegetal no digerible, que incluye los polisacáridos no almidón y la lignina. La fibra alimentaria presenta una serie de propiedades físico-químicas que explican los efectos fisiológicos que se le atribuyen. Pero es difícil encontrar los términos exactos para definir la fibra alimentaria, no sólo por los componentes de esta, sino también porque debe responder a sus propiedades físico-químicas y sus beneficios fisiológicos

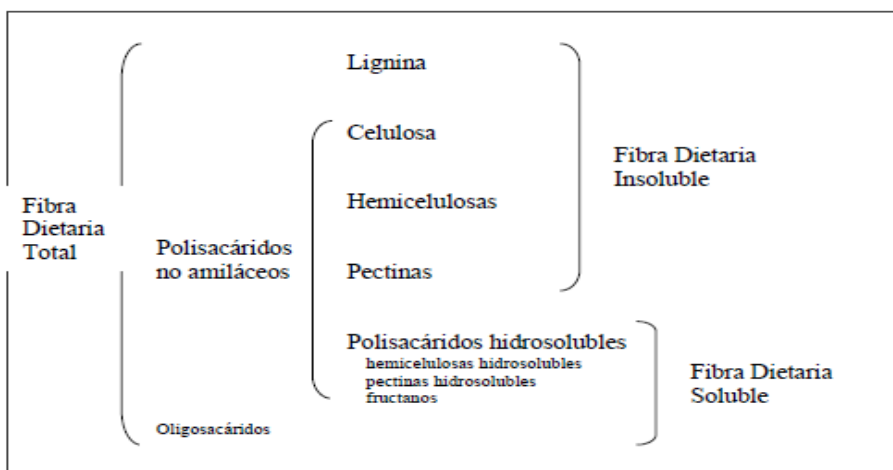
1. Principales constituyentes parietales

Según Navarrete, C. (2008), entre los numerosos constituyentes de la pared celular vegetal, conviene destacar cinco clases principales de compuestos fibrosos, en función de su estructura química y sus propiedades:

- cuatro clases de polímeros insolubles en agua (lignina, celulosa, hemicelulosas insolubles, pectinas insolubles)
- una clase de compuestos solubles en agua (hemicelulosas solubles, pectinas solubles; también se incluyen algunos carbohidratos no parietales que sólo son degradables por enzimas microbianos, como ciertos polisacáridos de bajo peso molecular y oligosacáridos).

Esta clasificación de la fibra dietaria se ilustra en la figura 1. A continuación se detallan los aspectos más relevantes de cada una de las distintas clases de fibra.

Figura 1. Clasificación simplificada de la fibra dietaria



Fuente: adaptado de Li 1995

a. Lignina

Se trata de los únicos polímeros no sacáridos de la pared celular (desde un punto de vista estrictamente bioquímico debería utilizarse el término en plural, aunque todos tienen similares propiedades y la misma significación digestiva o nutricional). Forman una red tridimensional muy ramificada y completa, constituida por tres derivados alcohólicos del fenilpropano (alcohol p-cumarílico, alcohol coniferílico, alcohol sinapílico). Las redes de lignina tienden a fijar a los otros polímeros parietales, excluyen al agua y hacen que la pared celular sea más rígida y resistente. Es resistente a la mayoría de agentes químicos y enzimáticos, incluyendo los enzimas microbianos. Existen fuertes enlaces químicos entre la lignina y la mayoría de los polisacáridos (y proteínas) parietales, lo que impide o dificulta la digestión de estos compuestos. La mayor parte de los alimentos concentrados y de las plantas herbáceas jóvenes contienen menos del 5% de lignina; cuando la hierba envejece, su contenido en lignina alcanza el 12% (Navarrete, C. 2008).

b. Celulosa

Es el principal polisacárido estructural de la pared celular. Es un homopolímero formado por cadenas lineales de unidades de glucosa unidas por enlaces $\beta(1-4)$, con un grado de polimerización normalmente en torno a 8000-10000. Estas cadenas lineales se agregan entre sí mediante puentes de hidrógeno formando microfibrillas. Se encuentra unida física y químicamente a otros componentes parietales como las hemicelulosas y la lignina. Sólo es soluble (y parcialmente hidrolizable) en soluciones ácidas fuertes (por ejemplo, ácido sulfúrico 12M). Su degradabilidad por la microbiota digestiva (fermentescibilidad) puede considerarse lenta/baja (Navarrete, C. 2008).

Cuantitativamente, la celulosa representa el 40-50% de la materia seca (MS) en las cascarillas de legumbres y semillas oleaginosas, el 10-30% en forrajes y pulpas de remolacha y el 3-15% en legumbres y semillas oleaginosas. La mayoría de los cereales contienen pequeñas cantidades de celulosa (1-5%) excepto la avena (10%).

c. Hemicelulosas

Las hemicelulosas son un grupo de diversos polisacáridos con menor grado de polimerización que la celulosa. Generalmente, se trata de heteropolímeros ramificados con un esqueleto constituido por xilosa, glucosa, manosa o galactosa, con enlaces $\beta(1-4)$, con cadenas laterales formadas por arabinosa, ácido galacturónico, galactosa, glucosa o xilosa. La principal hemicelulosa de la pared celular primaria en dicotiledóneas (tanto en plantas como en semillas) son xiloglucanos, mientras que los cereales contienen arabinoxilanos y β -glucanos (homopolímeros lineales de glucosa con enlaces $\beta(1-3)$ y $\beta(1-4)$), siendo ambos parcialmente solubles en agua. También se incluyen otros heteropolímeros ramificados (enlaces $\beta(1-3)$, $\beta(1-6)$, $\alpha(1-4)$, $\alpha(1-3)$), como arabinogalactanos (en semillas de soja), galactomananos (en legumbres), glucomananos y galactoglucomananos. Asimismo, también se clasifican como hemicelulosas polímeros lineales de xilosa con enlaces $\beta(1-4)$ (xilanos) o de manosa (mananos).

Las hexosanas, tales como mananos, galactomananos, glucomananos y galactoglucomananos sólo son solubles en soluciones alcalinas fuertes; las pentosanas, tales como xilanos y arabinosilanos, son solubles en soluciones alcalinas débiles o en soluciones ácidas calientes y algunas en detergente neutro e incluso en agua caliente, como ya se ha indicado. Con la limitación que supone la heterogeneidad de este grupo de polímeros, las hemicelulosas son en general de fermentabilidad intermedia (Navarrete, C. 2008).

Las hemicelulosas constituyen en torno al 10-25% de la MS en forrajes, subproductos industriales (salvados, cascarillas, pulpas), legumbres y semillas oleaginosas, y sobre un 2-12% de MS en cereales y raíces (Navarrete, C. 2008).

d. Pectinas

Navarrete, C. (2008) sostiene que son un grupo de varios heteropolisacáridos ramificados compuestos por un esqueleto lineal de ácido galacturónico (interrumpido con unidades de L-ramnosa) y ramificaciones que contienen azúcares neutros (principalmente arabinosa y galactosa); las sustancias pécticas incluyen pectinas y polisacáridos neutros. Son solubles en detergentes (neutro o ácido) y en agua caliente son altamente fermentables, como el almidón.

Las pectinas representan alrededor del 25% de la MS en las pulpas de remolacha o cítricos, del 5-10% en las leguminosas herbáceas (como la alfalfa) y del 4-14% en las legumbres (Navarrete, C. 2008).

e. Carbohidratos fibrosos no parietales

También son constituyentes de la fibra dietaria ciertos compuestos no parietales, solubles en agua fría pero no en etanol-agua y que son de alta fermentabilidad. Los frútanos son polisacáridos de reserva de bajo peso molecular, solubles en agua y constituidos esencialmente por fructosa, aunque la mayoría presenta unidades terminales de sacarosa; se distinguen tres grupos: levano, inulina y

frútanos altamente ramificados. También se incluyen oligosacáridos con un grado de polimerización superior a 15. En general son poco abundantes en los alimentos para animales, siendo destacable el contenido en frútanos de raíces y hierbas gramíneas (5-15% de la MS), así como el de α -galactósidos de las legumbres (5-8% de la MS) (Navarrete, C. 2008).

2. Características de la matriz fibrosa

Según Savón, L. (2002), la complejidad de la matriz fibrosa de los alimentos dificulta su caracterización. En un taller realizado en Holanda (1998) por el proyecto PROFibra de la comunidad Económica Europea, se planteó que la caracterización de la fibra dietética comprendía el conocimiento de la composición química de los componentes de la pared celular (estructura primaria), de los aspectos estructurales de los polisacáridos constituyentes (estructura secundaria) y de la denominada estructura terciaria o arquitectura de la fibra, que se refiere a la relación estructura y comportamiento funcional de los componentes de la pared celular y sus efectos fisiológicos.

Esta estructura ha sido poco explorada y constituye la principal limitación para conocer el comportamiento de la fibra dietética en los alimentos durante el tránsito digestivo (Savón, L. 2002).

G. PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS

Las propiedades físicas de los alimentos permiten predecir sus efectos fisiológicos en el organismo-animal (Dihigo, 2007). Su calidad se ve modificada por las propiedades físicas las que pueden ser independientes de su composición química.

Las propiedades pueden influir directamente en los procesos biológicos como: consumo, digestión de nutrientes y potencial fermentativo, entre éstos los más significativos son el tamaño de partícula, volumen, solubilidad y propiedad de

superficie como la capacidad de adsorción de agua, capacidad bufferante o tampón y capacidad de intercambio catiónico (Savón, L. 2002),

1. Determinación de las propiedades físico- químicas.

Savón, L. (2002), afirma que la calidad de los alimentos fibrosos se pueden modificar considerablemente por sus características físico- químicas. Factores tales como tamaño de la partícula, solubilidad, capacidad tampón o bufferante, volumen de empacada y propiedades de superficie de la partícula fibrosa (capacidad de absorción de agua e intercambio catiónico) y viscosidad influyen fisiológicamente en la ingesta del tracto gastrointestinal. Así, la mayor influencia de la fibra en la porción superior del tracto gastrointestinal se puede explicar por la capacidad de absorción de agua. En la porción inferior existe una interrelación entre las propiedades físicas, químicas y las bacterias colónicas. Se puede afirmar que la capacidad de adsorción de agua es la característica física más importante de la fibra.

Ahora bien, la caracterización de la fibra dietética no solo comprende su composición sino también las propiedades físico- químicas. Varios investigadores han planteado que la fibra dietética a través de sus componentes solubles e insolubles pueden ejercer efectos fisiológicos a lo largo del tracto gastrointestinal de monogástricos (Krogdhal 1988). La magnitud con que esto tiene lugar depende de la naturaleza química de la fibra (fuente y tratamiento), la forma en que se asocia con otros compuestos, la concentración y nivel de alimentación y estado fisiológico del animal (edad y peso vivo).

Carvajal J. (2008), manifiesta además que en aves y cerdos, las características señaladas podrían afectar el tiempo medio de retención de la digesta, a través de un efecto mecánico o laxativo en el tracto gastrointestinal (TGI) con un aumento del peso y volumen de las excretas, además, el aumento del tránsito intestinal provocará una menor absorción de nutrientes y energía (Savón, L. 2002),

Los efectos fisiológicos más importantes se observan en el Cuadro 14.

Cuadro 14. EFECTOS FISIOLÓGICOS PRINCIPALES EN ESPECIES MONO GÁSTRICOS DE LA FIBRA DIETARIA EN RELACIÓN CON SUS PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS.

Efectos fisiológicos	Propiedades físico químicas	Mecanismo de acción
Consumo	Volumen Capacidad de retención de agua Dilución energética	Mecanismo Viscosidad Sabor Hormonal
Velocidad del tránsito	Volumen Tamaño de partícula Capacidad de absorción de agua	Mecanismo Viscosidad Hormonal
Hidrólisis enzimática	Capacidad de absorción de agua	Mecanismo Viscosidad Hormonal
Fermentación microbiana	Estructura de la pared celular Capacidad de intercambio catiónico	Crecimiento microbiano Potencial fermentativo

FUENTE: Savón L. 2002

La técnica usada en las determinaciones de las propiedades físicas son relativamente sencillas y de fácil aplicación. No obstante, es necesario señalar que los resultados se pueden alterar de forma impredecible debido al método utilizado, el tipo de fibra y el modo de preparación u obtención. Por consiguiente, los resultados obtenidos para cada preparación son particulares de ella y se debe cuidar no extrapolarlos a todas las fuentes fibrosas de ese género (Carvajal J. 2008).

a. Capacidad de adsorción de agua

Refleja la habilidad de la fibra para hincharse y aumentar así el peso de las heces y diluyendo el contenido colónico. Es una medida de la habilidad de la fibra para

inmovilizar agua en su matriz. Esta capacidad de la fibra depende de la proporción relativa de los polisacáridos que la componen, así la capacidad de la lignina es casi nula, mientras que las celulosas captan menos agua que las pectinas (Savón 2007).

Se han planteado varios métodos gravimétricos para determinar la CAA; por centrifugación (McDowell *et al* 1974), por filtración (Robertson e Eastwood 1980) o por la habilidad de la fibra a resistir un gradiente, generado de poli etilenglicol (PEG). Estos mismos autores descubrieron otro método de medición de la CAA que utilizaba una presión de succión osmótica para medir la retención del agua por la matriz fibrosa. Este último método es mucho más preciso, no obstante, el éxito de los mismos depende de la preparación de las muestra; así la fibra seca tiene una capacidad de adsorción de agua menor que cuando esta húmeda. Tales diferencias no se deben al estado químico de la fibra se ha demostrado en diferentes investigaciones realizadas en vegetales que la CAA varía con la especie, la edad y tipo de fibra.

Dihigo I, (2007) afirma que las fuentes de alimentos fibrosos utilizados como alternativa en la producción animal (caña de azúcar, harinas integrales y de follajes de bolicho, mucuna y canavalia, *Vigna unguiculata*, *Brachiaria decumbens*, etc.) tienen la capacidad de ser voluminosas y tener una gran capacidad de adsorción de agua. Esta última se basa en la capacidad de la matriz de la fibra de adsorber agua, engrosarse y aumentar así el peso de las heces. Esto demuestra que los alimentos tienen una menor capacidad para solubilizarse en agua, pero facilita el ataque de las enzimas celulasas.

Con el incremento de fibra soluble en la dieta, se adsorbe agua y se origina una viscosidad en el lumen intestinal que incrementa el flujo de agua que atraviesa el tracto, lo que resulta en una menor digestibilidad aparente del sodio con alteración de la osmolaridad. Otros componentes, como los ácidos biliares pueden ser absorbidos por las fibras gelificantes y la lignina, son procesos generalmente irreversibles están influidos por la disminución del pH en el medio (Rico, N. 1992).

En el conejo y en el cuy una de las propiedades físicas que más influye en los procesos digestivos es el tamaño de partícula de las fuentes fibrosas (Cuadro 15).

Cuadro 15. PROPIEDADES FÍSICAS DE LA FIBRA DIETÉTICA DE FUENTES FIBROSAS

Fuentes fibrosas	% Solubilidad	Volumen mLg-1	Capacidad de absorción de agua g.g-1	Capacidad tampón		Cap de Intercambio CationicomeqgFDN
				Meq Acido	Meq básico	
<i>Medicago sativa</i>	27,0	3,1	7,5	0,5	0,4	-
<i>C. ensiformis</i>	8,7	3,8	9,5	0,5	0,4	-
<i>L. purpureus</i>	6,1	4,1	10,3	0,4	0,3	-
<i>V. unguiculatavar</i>	22,0	2,4	7,8	0,2	0,02	-
<i>Habana 82</i>						
<i>L. Leucocephala</i>	16,0	1,9	5,5	-	-	5,5
<i>Cajanuscajan</i>	18,6	4,8	6,1	-	-	-
<i>T gigantea</i>	16,1	3,1	6,9	0,9	0,3	
<i>Zea mayz</i>	49,5	1,7	1,4	-	0,6	
Saccharina	23,0	7,0	7,6	0,5	0,33	0,1

Fuente: Savón, 2007

b. Volumen, empacamiento y solubilidad. Fundamento teórico

Estas medidas se utilizan actualmente para complementar la evaluación de algunos alimentos destinados a la alimentación animal. El volumen de empacamiento o "Packedvolume" se refiere a la capacidad que tienen algunos forrajes para reducir su volumen espacial después de sufrir una centrifugación de aproximadamente 3000 r.p.m. la solubilidad es una propiedad que se refiere a la probabilidad que poseen los alimentos para solubilizarse en el agua durante 1h de sumersión en este fluido (Dihigo I, 2007).

c. Capacidad bufferante o tampón. Fundamento teórico.

La capacidad bufferante o tampón de un sólido en solución se define como una medida de la resistencia a variar el pH ante la adición de una base o un ácido fuerte.

Durante el proceso de digestión el ecosistema del tracto gastrointestinal de las especies monogástricas sufre un cambio dramático del pH desde muy ácido (pH 1.0) a cerca de la neutralidad (pH 6.8 - 7.2). Se ha demostrado que cambios en el pH pueden afectar la capacidad de captar o de enlazar los minerales y a la vez una reducción en la absorción de estos elementos se puede correlacionar con las actividades de intercambio catiónico. Los minerales endógenos (presentes en el alimento) no se enlazan en condiciones muy ácidas, pero se puede volver a enlazar a la fibra cuando el pH aumenta. Las fuentes fibrosas tienen diferentes habilidades para reenlazar los minerales endógenos. La capacidad bufferante o tampón, intrínseca de la fuente fibrosa se determina a partir del número de equivalentes de ácidos y de base consumido para cambiar su pH en una unidad (Dihigo I, 2007).

V. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

A. LOCALIZACIÓN

La recolección de las muestras se realizó por muestreo estratificado en varios cantones de la provincia de Chimborazo: Pallatanga (Palmital), Penipe (Matus), Chambo y Riobamba (Quimiag), a 2600, 2700, 2800 y 2900 msnm, respectivamente. Los análisis y valoraciones se realizaron en las áreas experimentales del laboratorio de nutrición animal y bromatología, de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, situado en el Km 1,5 Panamericana Sur, el experimento tuvo una duración de 120 días.

Para el pasto azul, como para el Rye grass, se hizo la molienda de las muestras en un molino de martillo FRITSCH, con un tamiz de 1mm.

Cuadro16. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE CUATRO SECTORES A DIFERENTES ALTURAS DENTRO DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO

SECTOR	TEMPERATURA °C	ALTITUD msnm	PRECIPITACION mm
Palmital (Pallatanga)	17°C	2614	500 mm
Matus (Penipe)	15°C	2708	750 mm
Chambo (Chambo)	14°C	2796	714 mm
Quimiag (Riobamba)	14 °C	2906	736 mm

Fuente: GAD Chimborazo 2014.

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Las unidades experimentales están conformadas por parcelas de 1 m², con seis repeticiones y cuatro distintas alturas para cada forraje, dando un total de 24 repeticiones para cada forraje.

C. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Para cada gramínea, los tratamientos correspondieron a las diferentes alturas, y cada tratamiento tuvo 6 repeticiones, por lo que se tiene un total de 24 repeticiones,

Las unidades experimentales se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar, ajustadas al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = valor del parámetro en determinación.

μ = Media general

T_i = Efecto de la altura

ϵ_{ij} = Efecto del error experimental.

Cuadro 17.- ESQUEMA DEL EXPERIMENTO RYE GRASS

Tratamientos	Código	Repeticiones	T U E	Total
2600 msnm	T1	6	1 m ²	6
2700 msnm	T2	6	1 m ²	6
2800 msnm	T3	6	1 m ²	6
2900 msnm	T4	6	1 m ²	6
TOTAL				24

TUE. Tamaño de la unidad experimental

Fuente: Janeta, N. (2014)

Cuadro 18.- ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PASTO AZUL

Tratamientos	Código	Repeticiones	T U E	Total
2600 msnm	T1	6	1 m ²	6
2700 msnm	T2	6	1 m ²	6
2800 msnm	T3	6	1 m ²	6
2900 msnm	T4	6	1 m ²	6
TOTAL				24

TUE. Tamaño de la unidad experimental

Fuente: Janeta, N. (2014)

D. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Para ambos pastos, se realizaron las siguientes mediciones experimentales:

- Análisis proximal: Proteína bruta, proteína verdadera, se determinaron según Meir (1991), cenizas, fibra cruda, extracto etéreo y extracto libre de nitrógeno, según los métodos de la AOAC (2002).
- Paredes celulares: Fibra detergente neutra, Fibra detergente acida, Lignina acida detergente se determinaron según el método de Goering y Van Soest (1970).
- Propiedades físico-químicas: Solubilidad, capacidad de adsorción de agua, capacidad amortiguadora acida, capacidad amortiguadora básica se determinaron en base a la técnica utilizada por Savon (2002).
- Digestibilidad in vitro de la materia seca: Coeficiente de digestibilidad de la materia seca método del licor cecal, según lo explican Fernández y Carmona (1993) y coeficiente de digestibilidad de la materia seca método Pepsina – Pancreatina – Viscozyme, según Ramos y Carabaño (1992).

E. ANALISIS ESTADISTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Todos los análisis se realizaron por quintuplicado, los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente en el SAS, mediante un análisis de la varianza (ADEVA) y separación de medias a través de la prueba de Duncan a los niveles de significancia $P < 0.05$.

Cuadro 19. ESQUEMA DEL ADEVA

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD
TOTAL	23
TRATAMIENTOS	3
ERROR	20

Fuente: Janeta, N. (2014)

F. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Para el trabajo de campo se identificaron los lotes con los forrajes motivo del estudio: 5 para cada forraje y cada altitud. Dentro de los lotes se establecieron parcelas de 0.5 m², cercadas para su conservación. Se realizó un corte de igualación en cada una de las parcelas.

A los 48 días del primer corte se realiza el corte de evaluación, para inmediatamente llevar las muestras al laboratorio. Se transportaron las muestras en termos con hielo, para la conservación de las características del forraje. Las muestras frescas se procesaron en el laboratorio para los análisis planificados.

G. METODOLOGIA DE EVALUACION

1. Análisis proximal

a. Humedad Inicial

Si bien no es considerado un análisis químico per se, una correcta determinación del contenido de materia seca de un alimento dado es fundamental, ya que un error en este paso se transfiere al resto de los componentes químicos, los cuales debieran ser expresados sobre base materia seca para permitir comparaciones con otros alimentos (Colombatto, D. 2002).

1) Principio del Método

La determinación de la humedad inicial consiste en secar el forraje a menos de 60 grados de temperatura hasta obtener un peso constante, mediante la evaporación; también se puede secar por congelación, luego la muestra se lleva a equilibrio con la humedad ambiente para realizar la molienda para el análisis. La cantidad de muestra residual, convertida a porcentaje luego del secado, se considera como el contenido de materia seca total o materia seca parcial, según el origen de la muestra (AOAC 2002).

b. Humedad Higroscópica

1) Principio del Método

La humedad de la muestra se pierde por volatilización a causa del calor, hasta que se haya eliminado el 100 % de agua. Esta humedad se elimina a una temperatura de 105 grados centígrados, durante 2 a 3 horas (AOAC 2002).

c. Humedad Total

La determinación de la materia seca es importante en la nutrición animal ya que mediciones imprecisas, resultan en la estimación inexacta de ingestión de materia seca, eficiencia del pienso y digestibilidad, en el caso de alimentos que contienen un 88% o más de materia seca (concentrado), balanceado, etc.), la humedad total será la misma que la humedad higroscópica, es decir que se lo determinará a 105 °C (AOAC 2002).

d. Ceniza

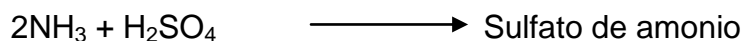
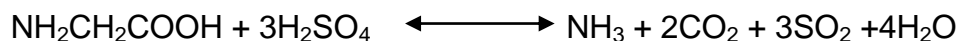
1. Principio del Método

La muestra de un alimento se incinera a 550°C para quemar todo el material orgánico presente en la muestra. El material inorgánico que no se quema a ésta temperatura se denomina cenizas (AOAC 2002). Se lleva a cabo hasta tener una ceniza de color claro o gris.

e. Proteína Bruta

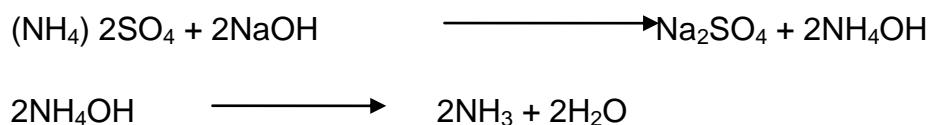
1. Principio

Calentando el alimento con ácido sulfúrico concentrado, los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar anhídrido carbónico y agua. La proteína se descompone con la formación de amoníaco el cual interviene en la reacción con el ácido sulfúrico y forma sulfato de amonio (AOAC 2002).



El sulfato de amonio en medio ácido es resistente y su destrucción con desprendimiento de amoníaco sucede solamente en medio básico. Por

consiguiente, luego de la forma de la sal de sulfato de amonio, actúa en base fuerte al 50% y se desprende todo el nitrógeno en forma de amoníaco:



El amoníaco que se desprende se calcula mediante la absorción de este con 0.1N de una solución de ácido clorhídrico por titulación (AOAC 2002).

f. Extracto Etéreo

1. Principio del Método

El hexano se evapora y se condensa continuamente y al pasar a través de la muestra extrae materiales solubles en el solvente orgánico. El extracto se recoge en un beaker y cuando el proceso se completa el hexano se destila y se recolecta en otro recipiente, y la grasa que queda en el beaker se seca y se pesa (AOAC 2002).

g. Fibra Cruda

1. Principio del Método

La muestra problema se digiere primero con una solución de ácido diluido luego con una solución de base diluida. Los residuos orgánicos restantes se recogen en un crisol de filtración y se lavan con un solvente orgánico para eliminar el E.E. La pérdida de peso y después de quemar la muestra se denomina fibra cruda (Harris, E 2001).

AOAC (2000), manifiesta que el ácido hidroliza a los carbohidratos insolubles, los álcalis transforman en estado soluble las sustancias albuminosas, separan la grasa, disuelven parte de la hemicelulosa y lignina, el éter o acetona extraen las

resinas, colorantes residuos grasos y eliminan el agua; lo que queda es la fibra bruta.

h. Extracto libre de nitrógeno

Esta es una fracción que no se determina y proviene de la diferencia de:

$$100 - (\text{H}_2\text{O} + \text{cenizas} + \text{proteína} + \text{fibra cruda} + \text{extracto etéreo})$$

2. Determinación de paredes celulares

Mediante el método de Van Soest, el cual permite determinar:

a. Fibra Neutra Detergente (F.N.D.)

1. Principio del Método

El procedimiento neutro detergente para determinar los componentes de la pared celular es un método rápido para fibra total en alimentos fibrosos vegetales. Aparentemente divide la materia seca al punto de que separa a los constituyentes nutricionales solubles o que dependen de la fermentación microbiológica para su aprovechamiento. Este método no puede aplicarse a los alimentos que tienen alto contenido de proteína y bajo en fibra (Van Soest, P. J. 1994).

b. Fibra Acido Detergente (F A. D.)

1. Principio

Este procedimiento permite una rápida determinación de la lignocelulosa en los alimentos. Sin embargo, en esta fracción también aparece el Sílice. La diferencia entre el valor de las paredes celulares de la fibra ácida detergente, da una

estimación del valor de la Hemicelulosa, ya que esta diferencia también incluye una fracción de proteína adherida a las paredes celulares. El método de fibra por ácido detergente también emplea como paso preliminar en la determinación de la lignina (Van Soest, P. J. 1994).

c. Lignina Acida Detergente (L. A. D.)

1. Principio

Este procedimiento utiliza como primer paso la técnica empleada para la determinación de la fibra. El detergente extrae la proteína y otros materiales solubles en ácido que interfieren con la determinación de la lignina. El principio de este procedimiento estuvo en que el residuo de la fibra ha sido detergente consiste principalmente de la lignocelulosa de cuyo compuesto se disuelve y separa la celulosa por medio de la solución de H₂SO₄ al 72%, quedando la lignina y la ceniza no soluble en ácido. También la cutina contenida en cantidades apreciables en ciertas muestras, se toma como si fuera parte de lignina (Van Soest, P. J. 1994).

3. Determinación de las Propiedades Físico-Químicas

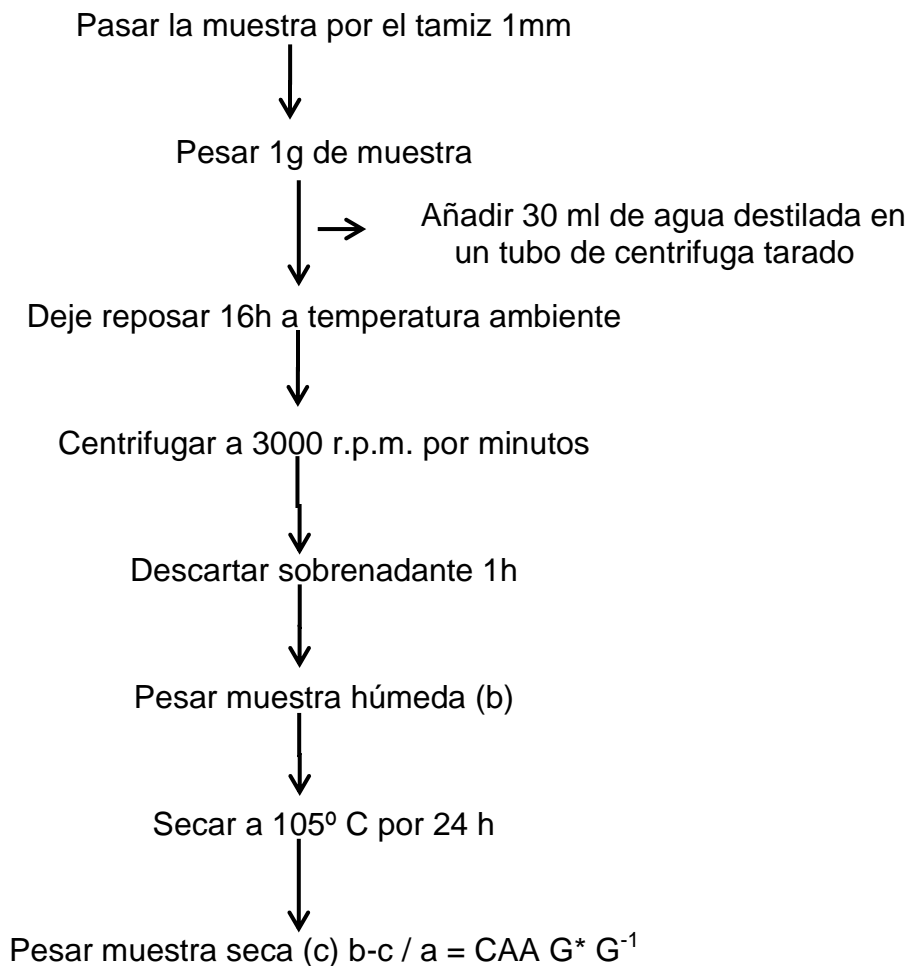
a. Capacidad de adsorción del agua (método gravimétrico)

1. Principio

Savón, L. (1999), describe que la muestra es pasado por un tamiz, luego pesar 1 gr. (a) de muestra (añadir 30 ml de agua destilada en un tubo de centrifuga tarado) esto dejar reposar por 16 horas a temperatura ambiente, luego centrifugar a 3000 rpm por 20 min., decantar 1h, a continuación pesar muestra húmeda (b) y secar a 105 °C por 24h, por ultimo debemos pesar la muestra seca (c) y aplicar fórmula $(b-c)/ a = CAA$.

2. Procedimiento

Figura 2. Capacidad de adsorción de agua, método de centrifugación



Fuente: Savón L, Univ. La Habana, Cuba 1999

b. Capacidad bufferante o tampón

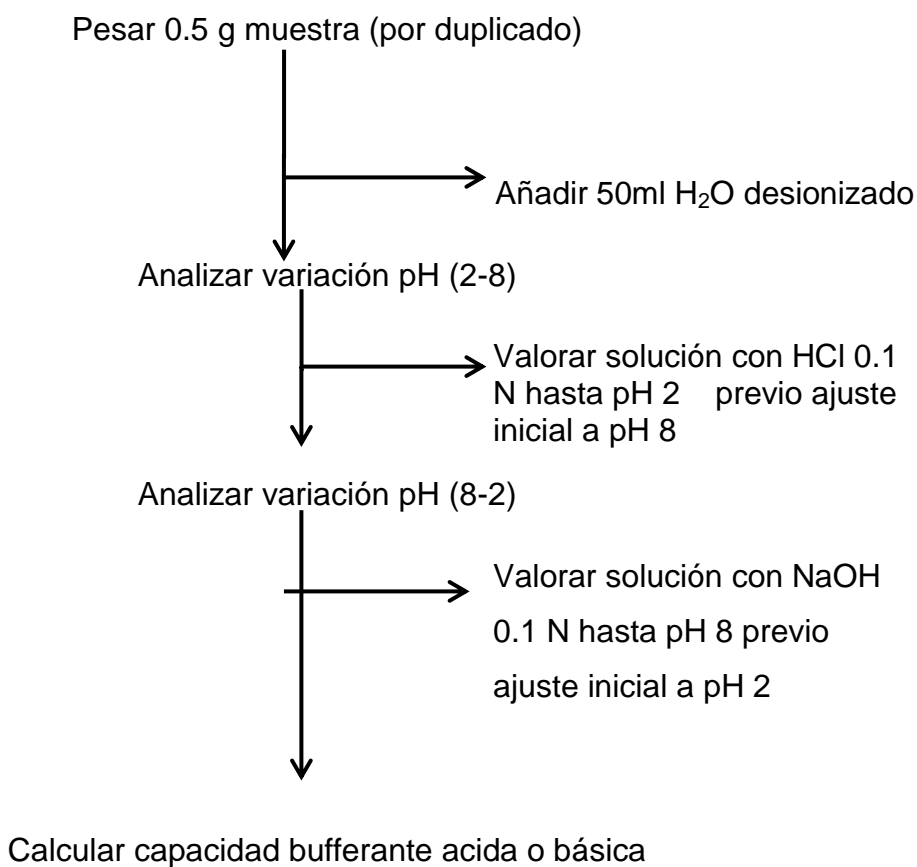
1. Principio, (capacidad bufferante intrínseca)

Savón, L. (1999), dice que pesemos 0.5 g de muestra y añadimos 50 ml de agua desionizada, a continuación valorar sin/con ClNaOH 0.1 N hasta pH de 2 previo ajuste inicial a pH de 8, analizar la variación pH (8-2) valorando sin/con NaOH 0,1 N hasta pH 8 previo ajuste inicial s pH de 2 .Seguidamente calculamos la

capacidad bufferante ácida o básica con la fórmula ($\beta = \Delta N / \Delta \text{pH} \times \text{muestra}$).

2. Procedimiento

Figura 3. Capacidad bufferante intrínseca



Fuente: Savón L, Univ. La Habana, Cuba 1999

c. Solubilidad

1. Técnicas de determinación. Procedimiento analítico. Cálculos.

En los diagramas siguientes se muestra el procedimiento analítico de estas determinaciones.

Figura 4. Determinación del volumen

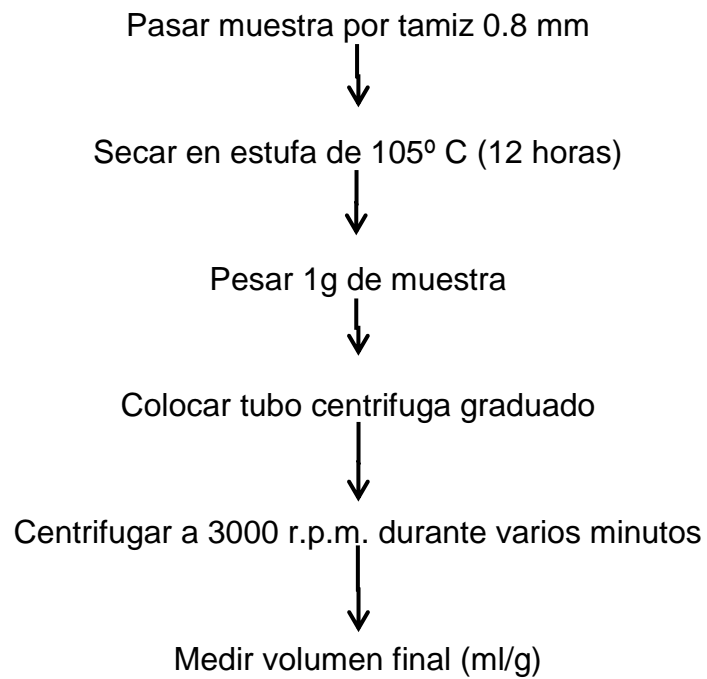
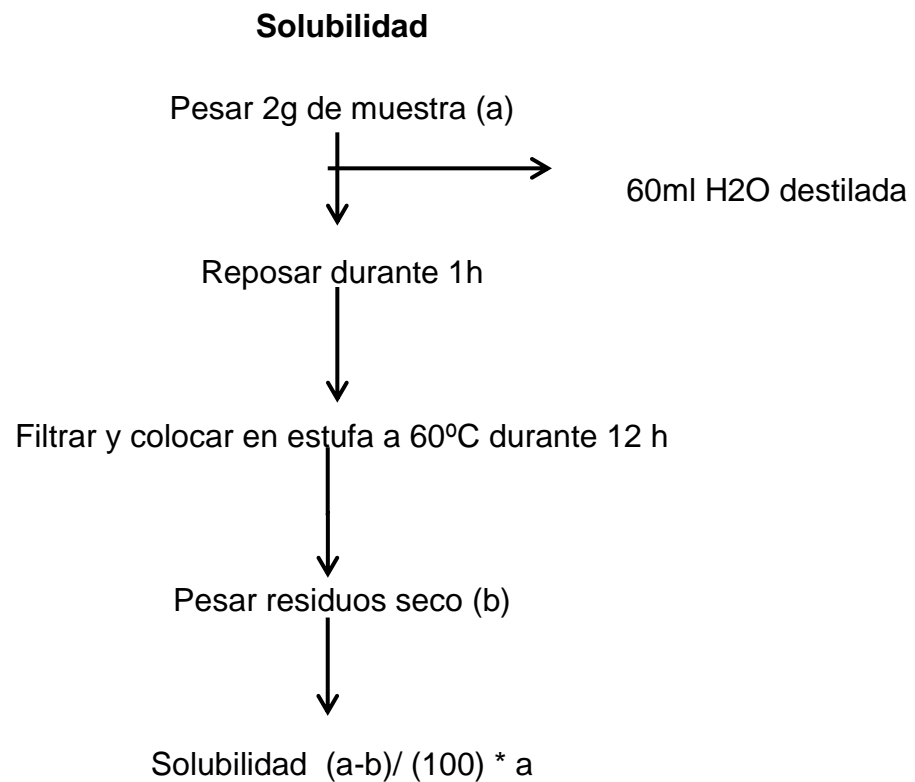


Figura 5. Determinación de la solubilidad



4. Determinación de la digestibilidad in vitro

a. Digestibilidad pepsina pancreatina Viscozyme

La técnica se fundamenta en el uso de enzimas sintéticas que simulan la acción de las mismas enzimas propias del estómago del animal sobre los alimentos que sean objeto del análisis y con la simulación de las condiciones de pH y temperatura a las cuales son estas enzimas realizan su acción dentro del estómago del animal, lo que permitirá obtener datos comparativos para establecer conclusiones y obtener resultados sobre la digestibilidad del alimento.

1. Procedimiento

a) Primer período de incubación

- Se pesa 1 g de muestra con una precisión de $\pm 0,1$ mg y se introduce en un matraz Erlenmeyer de 100 ml con una varilla magnética en su interior.
- Se añaden 25 ml de una solución tampón fosfato (0,1 M; pH=6) Buffer A, y 10 ml de HCl 0,2 M y se mezcla con un agitador magnético.
- A continuación se añade 1 ml de una solución de pepsina en HCl 0,2 M (conteniendo 25 mg/ml de pepsina). Esta solución es inestable, por lo que debe prepararse inmediatamente antes de su utilización.
- Para prevenir la contaminación microbiana se puede añadir 0,5 ml de una solución de cloranfenicol < 0,5 g/100 ml de etanol).
- El contenido de cada matraz se mezcla bien en un agitador magnético y se tapan los matraces con un tapón de goma antes de introducirlos en una estufa a 40 °C durante 1,5 h.

b) Segundo período de incubación

- A cada mezcla se añaden 10 ml de una solución fosfato tamponada (0,2 M; pH=6,8), Buffer B, para mantener estable el pH, y 5 ml de una

solución de NaOH 0,6 M, para neutralizar la solución. El pH se ajusta a 6,8 con HCl y NaOH 1 M.

- A continuación se añade 1 ml de una solución de pancreatina en buffer B, conteniendo 100 mg/ml (porcine, grade VI, Sigma n. P-1750). Esta solución debe prepararse inmediatamente antes de su utilización, pues es inestable, y debe estar perfectamente homogeneizada.
- Tras la correcta mezcla del contenido de cada matraz, estos se tapan y se introducen de nuevo en la estufa a 40 °C durante 3,5 h.

c) Tercer período de incubación

- Utilización de Viscozyme: transcurrido el segundo período de incubación, se ajusta el pH a 4,8 con ácido acético, se añaden 0,5 ml de Viscozyme y se mezcla bien.
- Los matraces se tapan de nuevo y se introducen una vez más en la estufa a 40 °C durante 16 h (hasta la mañana siguiente), lo que constituye el tercer período de incubación.

Tras esta tercera incubación, los residuos no digeridos se recogen por filtración por vacío transfiriéndolos a crisoles de placa porosa (porosidad 2; 40-90 Lm) previamente tarados a los que se ha añadido 0,3 g de celita (545 Merck 2693).

A continuación se hacen 2 lavados de unos 50 minutos con etanol y otros 2 con acetona. Los crisoles con los residuos se introducen en la estufa a 103 °C donde se secan a peso constante (hasta la mañana siguiente). Tras enfriarlos en un desecador, se pesan para obtener la MS indigestible in vitro. Si tras esta operación se introducen los crisoles en un horno a 550 °C durante 3 h, se dejan enfriar en un desecador y se pesan, se obtiene la cantidad de cenizas. La diferencia entre el peso tras el secado a 103 °C y el peso tras la incineración es la MO no digerida in vitro.

b. Digestibilidad técnica del licor cecal

La técnica se fundamenta en el uso del contenido cecal de cuy que simula la acción fermentativa de los microorganismos existentes en el ciego del animal sobre los alimentos que sean objeto del análisis y con la simulación de las condiciones de pH y temperatura a las cuales estas enzimas realizan su acción dentro del animal, lo que permitirá obtener datos comparativos para establecer conclusiones y obtener resultados sobre la digestibilidad del alimento

1. Preparación del licor cecal

Se prepara como lo describen Fernández y Carmona (1993):

12 cuyes destetados fueron alimentados con la misma dieta, el mismo consumo y mostraron una normal ganancia de peso. Después de 5 días de recolectar sus heces, fueron sacrificados.

Se tomaron 200 g del contenido cecal para disolverlos en 320 ml de saliva artificial (8g de NaHCO_3 , 4g de H_2PO_4 , 0,5 g de $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$, 1,5 g de NaCl y 0,5 de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) bajo una corriente de CO_2 .

Luego el contenido cecal fue filtrado y macerado a 40 °C bajo una corriente constante de CO_2 por media hora.

Después de la maceración la solución fue centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos y 1680 ml de saliva artificial se añadieron a lo flotante, obteniendo el licor cecal que se mantiene a 40 °C bajo una corriente de CO_2 .

2. Procedimiento

Se realiza un período de adaptación a las dietas durante 4 días mínimo, posteriormente, se sacrifican a los animales de experimentación y se utilizan los contenidos de los ciegos.

Se seleccionan las muestras de cada forraje, mismas que se depositan en bolsas de muselina o dacron con poro de 48μ que contienen 1 g de muestra.

A continuación se realizara una dilución del inóculo con saliva artificial en proporción 4:1

Las bolsas con muestras se depositan en tubos de incubación de 20 ml y se adiciona a cada tubo 50 ml del inóculo. Después se incubará a 38°C durante 48 h.

Al terminar el período de incubación las bolsas se lavaron en tres tiempos con agua destilada y alcohol etílico de 90° y se colocan en una estufa a 60° durante 48 h., se pesan para obtener la materia seca indigestible in vitro. Si tras esta operación se introducen los crisoles en un horno a 550°C durante 3 h, se dejan enfriar en un desecador y se pesan, se obtiene la cantidad de cenizas. La diferencia entre el peso tras el secado a 103°C y el peso tras la incineración es la materia orgánica no digerida in vitro.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. RYE GRASS

1. Análisis proximal

Los valores en los diferentes pisos altitudinales para el Rye grass, en cuanto a composición Química, se resumen en el cuadro 20.

a. Humedad

Dentro del análisis proximal, y para la variable humedad total las medias de las diferentes alturas no presentaron diferencias significativas, encontrándose el menor contenido de humedad a 2700 msnm, con un valor de 80.04; y el valor más alto a 2600 msnm, con 81,6 % de humedad total.

Al respecto de esto, debemos considerar que una característica inusual en las plantas C3, como lo son las gramíneas de clima templado, no compartida con las C4, es la síntesis de carbohidratos de reserva, cuyo almacenamiento se incrementa por factores que reducen la utilización del carbono (como la altitud); es así que al ser mayor la concentración de carbohidratos probablemente el contenido de agua en las estructuras de la planta será menor.

b. Proteína bruta

Se determinó al realizar el análisis proximal que existen diferencias altamente significativas ($P < 0,0001$), para las medias de proteína bruta, siendo superior T4 (2900 msnm) con una media de 13.09, a continuación estuvieron las altitudes a 2600 y 2700 m con valores de 12.15 y 12.02, finalmente el valor inferior

Cuadro 20. ANALISIS PROXIMAL DEL RYE GRASS A DIFERENTES ALTURAS

PARÁMETROS	ALTITUDES				Significancia	Probabilidad
	2600 msnm	2700 msnm	2800 msnm	2900 msnm		
Humedad total (%)	81,60 a	80,04 a	80,26 a	80,08 a	ns	0.6578
Proteína bruta (%)	12,15 b	12,02 b	11,43 c	13,09 a	**	<.0001
Proteína verdadera (%)	10,99 a	10,51 b	10,23 b	11,34 a	**	<.0001
Ceniza (%)	11,72 b	11,52 b	10,76 c	12,34 a	**	<.0001
Fibra cruda (%)	27,32 c	30,11 a	28,77 b	27,96 bc	**	<.0001
Extracto etéreo (%)	2,43 a	2,01 c	2,50 a	2,26 b	**	<.0001
Extracto libre de nitrógeno (%)	39,49 a	37,93 b	40,56 a	39,36 a	**	0.0016

** Diferencias altamente significativas (P<.005).

Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según Duncan (P<0.05).

Elaborado: Janeta, N (2014)

correspondió a 2800 m con una media de 11,4 %, confirmando lo que afirma Aguilar, M. (2005), respecto a que la PC se incrementa conforme disminuye la temperatura, en este caso asociada con la altitud. Estos valores son ligeramente inferiores a lo reportado por Velásquez, P (2009), a 2800 m en distintas localidades de la provincia de Pichincha con valores promedio entre 13,83 y 14,47 %, sin embargo esta diferencia es influenciada por la edad al corte que en esta investigación fue de 35 días es decir menor a la edad de corte tomada para el presente experimento.

Al respecto FEDNA (2004) indica que un Rye grass de primera calidad debe tener un valor promedio entre 12 y 14,4 % de proteína bruta, mientras que en los países andinos, Carulla, J., (2013) en la sabana de Bogotá entre los 2700 y 2800 msnm, reporta valores mínimos de proteína cruda de 15,7 % y Leyva, L. (2001) en Perú indica un promedio de 11 % de PB, pero en la Estación IVITA localizada en el departamento de Junín a 3200 msnm, todos estos valores se encuentran cercanos a lo encontrado en la presente investigación, pudiendo señalarse que la variabilidad depende de factores medio ambientales y del estado fenológico de la planta.

c. Proteína verdadera

Las medias de la proteína verdadera del Rye grass, presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0,0001$), la mejor respuesta se evidenció en las muestras recolectadas a 2900 y 2600 msnm con un porcentaje de 11,3 y 10,9 respectivamente, los cuales difieren estadísticamente con los resultados obtenidos a 2700 msnm (10,5%) y a 2800 msnm (10,2 %), confirmando lo reportado en la proteína cruda, estas diferencias probablemente se deben a que conforme la temperatura se incrementa, el proceso fotosintético en las plantas de metabolismo C3, como las gramíneas de clima frío y templado en estudio se vuelve menos eficiente debido al incremento de la fotorespiración. En la Figura 6 se grafica la línea de tendencia de esta variable respecto a la altura, la cual nos indica una función cubica.

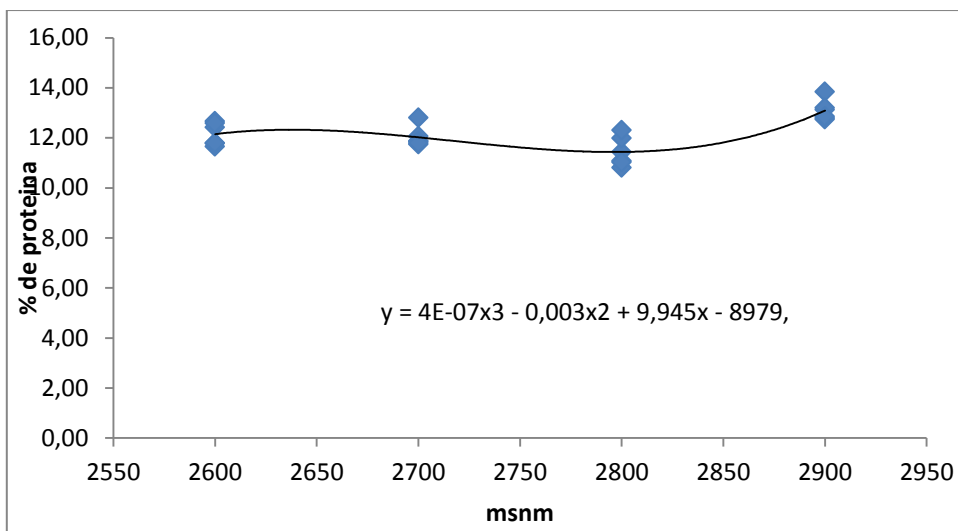


Figura 6. Análisis de regresión del contenido de proteína en relación con la altura de establecimiento del Rye grass.

Al respecto Carulla, J. (2013), reporta un valor de proteína soluble de 9,1 % en su investigación en Colombia y Saucedo, F. (2002) un valor de 13,57 % en Cajamarca a 2600 msnm, lo cual indica una alta variabilidad debido probablemente a las diferentes condiciones medioambientales.

d. Ceniza

Los resultados observados de las medias en cuanto a la variable ceniza presentaron la misma tendencia observada en la proteína verdadera, es decir se establecieron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), por efecto de la altura de siembra del Rye grass, reportándose los valores más bajos a 2800 msnm con una media de 10,8 %, la cual difiere estadísticamente de los valores obtenidos a 2600 msnm (11,7 %) y 2700 msnm (11,5 %); y los valores más altos para la ceniza se registraron a 2900 msnm (12,3 %); lo cual implica un mayor contenido de minerales seguramente debido a la mayor altitud de establecimiento del pastizal, como lo reportó Carulla, J. (2013).

Velásquez, P (2009), reportó valores entre 9,84 y 10,92 % en la provincia del Carchi a 3300 msnm, entre 9,86 y 13,37 % a 2200 msnm en Imbabura y entre

10,19 y 11,61 % a 2800 msnm en Pichincha. Si comparamos con otras investigaciones en la región andina, encontramos que Carulla, J. (2013), en Bogotá reporta un promedio de 12,4 % a 2800 msnm, Cedeño, D. (2010) en Nariño, 10,2 % en promedio en pastizales entre los 2500 y 3200 msnm y Leyva, L. (2001) en Perú un valor de 10,09 % a 3200 msnm, finalmente Cardona, M. (2001) en un resumen de la información de análisis bromatológicos en el Laboratorio integrado de Nutrición animal, Bioquímica, Pastos y forrajes en la Universidad de Antioquia reporta un valor de 10,3 % Estos valores son similares a lo reportado en el presente experimento, por lo que podemos afirmar que este parámetro se mantiene estable a pesar de las condiciones medio ambientales, sin embargo aparentemente está ligado a la calidad y al tipo de suelo. En la Figura 7 se ilustra la función cubica y la formula encontrada en el análisis de regresión de esta variable en función de la altura.

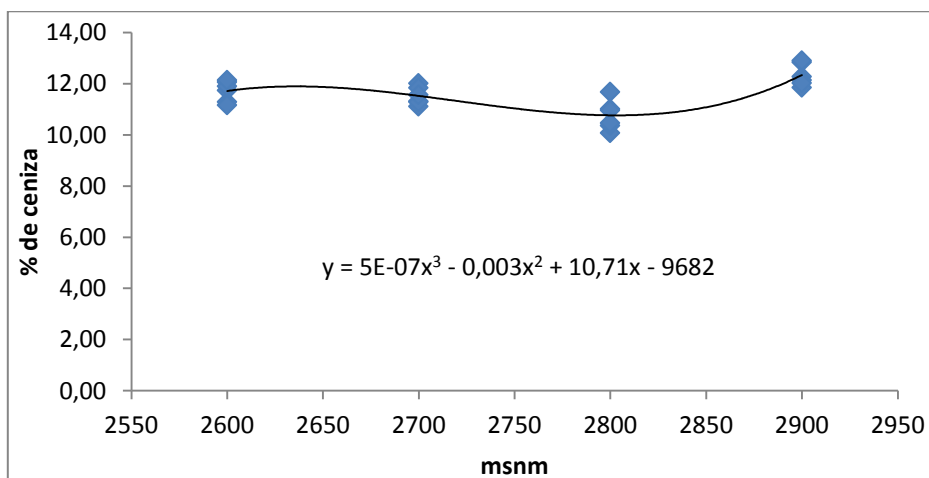


Figura 7. Análisis de regresión del contenido de ceniza en relación con la altura de establecimiento del Rye grass

e. Fibra Cruda

Las medias de la fibra cruda de los diferentes tratamientos evidenciaron diferencias altamente significativas ($P < 0.001$), por efecto de la altura, encontrándose los valores más altos a 2700 msnm, con una media de 30,11, que

fue superior estadísticamente a las demás; a continuación se ubicaron los tratamientos a 2900 y 2800 msnm, los cuales obtuvieron medias de 27,9 y 28,7 % respectivamente, confirmando lo afirmado por Aguilar (2005), respecto a que la FC disminuye conforme disminuye la temperatura y se incrementa la altitud.

Cardona, M. (2001) en el establecimiento de la base de datos para elaborar tablas de contenido nutricional de alimentos para animales reporta una media de 28,6 %, mientras que Leyva, L. (2001) en Perú reporta un valor promedio de 16.71 %, se hace evidente que la fibra cruda tiene una relación directamente proporcional y está íntimamente ligado a la madurez fisiológica de la planta. En la Figura 8 se grafica la función polinomial encontrada para la fibra cruda en función de la altura, la cual es cubica.

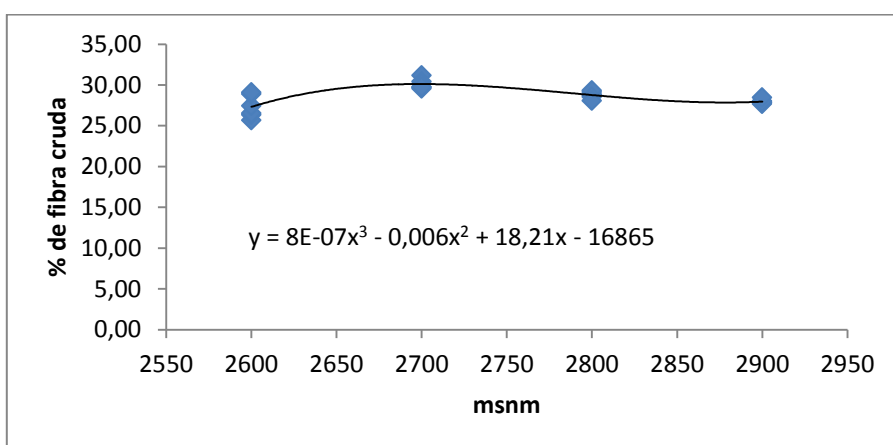


Figura 8. Análisis de regresión del contenido de fibra cruda en relación con la altura de establecimiento del Rye grass

Al respecto de esta variable, FEDNA (2004) indica un valor de 26,6 % de FC, para calificar a un Rye grass como de segunda en cuanto a VRF (Valor relativo del forraje), mientras que Velásquez, P (2009) reporta valores entre 17,8 y 22,6 % en Carchi a 3300 msnm, entre 18,7 y 31,8 % en Imbabura a 2200 msnm y entre 18,7 y 27,2 % en Pichincha a 2800 msnm, mismos que son ligeramente inferiores a todos los encontrados en esta investigación, debido a la edad de corte, ya que a menor edad, menor también la cantidad de fibra en el pasto.

f. Extracto Etéreo

Las medias encontradas en cuanto a extracto etéreo presentaron diferencias significativas ($P < 0.0001$), siendo mayores porcentajes a 2800 y 2600 msnm, donde se observaron medias de 2,5 y 2,4 %, las cuales son superiores estadísticamente a los valores obtenidos a 2900 msnm, que presento valores de 2,2 %; mientras que los valores más bajos fueron de las muestras obtenidas a 2700 msnm, que registraron una media de 2,002 % (Figura 9).

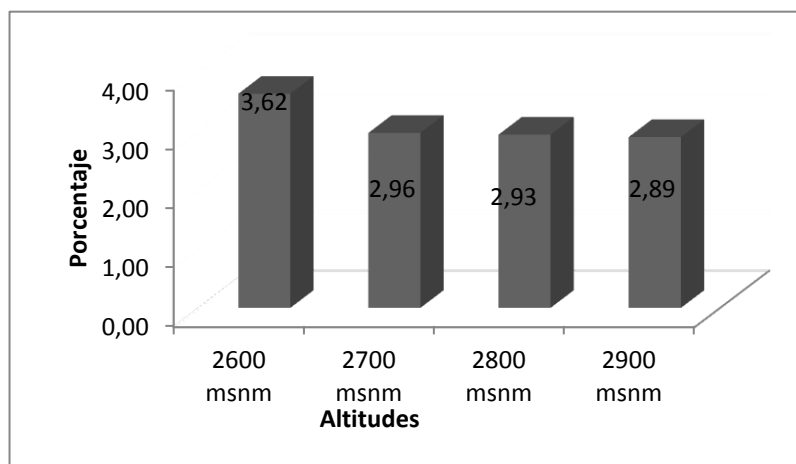


Figura 9. Contenido de Extracto etéreo del Rye grass a diferentes alturas

Al respecto de esta variable, FEDNA (2004) indica un valor de entre 2,6 y 3,23 % de EE, para calificar a un Rye grass como de segunda en cuanto a VRF (Valor relativo del forraje), mientras que Velásquez, P (2009) en su estudio de la adaptación del Rye grass en zonas representativas de la sierra, reporta valores entre 1,4 y 3,1 % en Carchi a 3300 msnm, entre 1,9 y 2,7 % en Imbabura a 2200 msnm y entre 2,05 y 2,74 % en Pichincha a 2800 msnm, mientras que Leyva, L. (2001) reporta un valor de 2,93 %.

Es evidente que los valores son similares en todas las investigaciones, y las pequeñas variaciones seguramente se deben a la edad de corte del pasto o diferencias en las condiciones medioambientales. La relación entre esta variable y la altura se ilustra en la Figura 10, donde es observamos que corresponde a una función polinomial cubica.

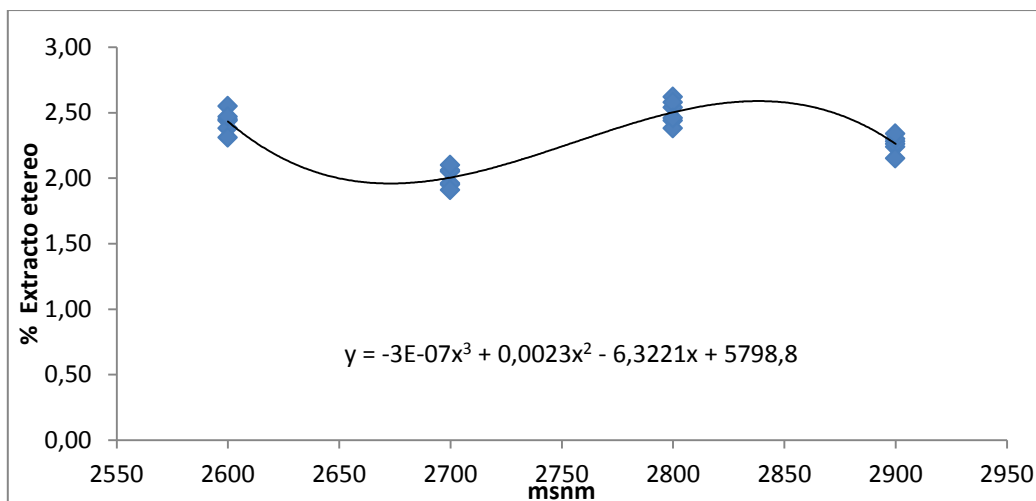


Figura 10. Análisis de regresión del contenido de extracto etéreo en relación con la altura de establecimiento del Rye grass

g. Extracto libre de nitrógeno

Al obtener el análisis proximal, las medias de las diferentes alturas reportaron diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.0001$), registrándose los mejores valores en las muestras de 2800, 2600 y 2900 msnm, que comparten el mismo rango de significancia; con una media de 40,5, 39,5 y 39,3 respectivamente; dichas medias fueron superiores estadísticamente a la media alcanzada a 2700 msnm (37,9 %), Velásquez, P (2009) reporta valores entre 50,3 y 56,3 % a 3300 msnm, entre 43 y 53,4 % a 2200 msnm y entre 46,4 y 53 % a 2800 msnm, Leyva, L. (2001) un valor de 64 % a 3200 msnm y Saucedo, F. (2002) 52,3 % a 2600 msnm; pudiendo señalar que este elemento en el Rye grass tienen una alta variabilidad al ser obtenido por diferencia con el resto de nutrientes, la misma que en la presente investigación se atribuye a la altura a la que se cultiva esta gramínea, la edad de la planta, probablemente también al tipo de suelo en la que es cultivada y además a factores atmosféricos como temperatura y latitud.

2. Análisis de paredes celulares

Los valores en los diferentes pisos altitudinales para el Rye grass, en cuanto a paredes celulares, se resumen en el cuadro 21.

a. Fibra detergente neutra

La Fibra detergente neutro reportó diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), por efecto de la altura, observándose los valores más altos a 2700 msnm, con valores medios de 60,23, la misma que evidencio diferencias estadísticamente significativas a los demás tratamientos, con valores de 59.2 y 58.3 para 2600 y 2800 msnm respectivamente, mientras que el valor más bajo se obtuvo a 2900 msnm con un valor de 56.19; notamos que la diferencia de 2700 msnm, con el promedio más bajo de FDN es de 4,04 con lo cual confirmamos que la diferencia fue significativa entre las medias de los diferentes tratamientos, como se reporta en la figura 11.

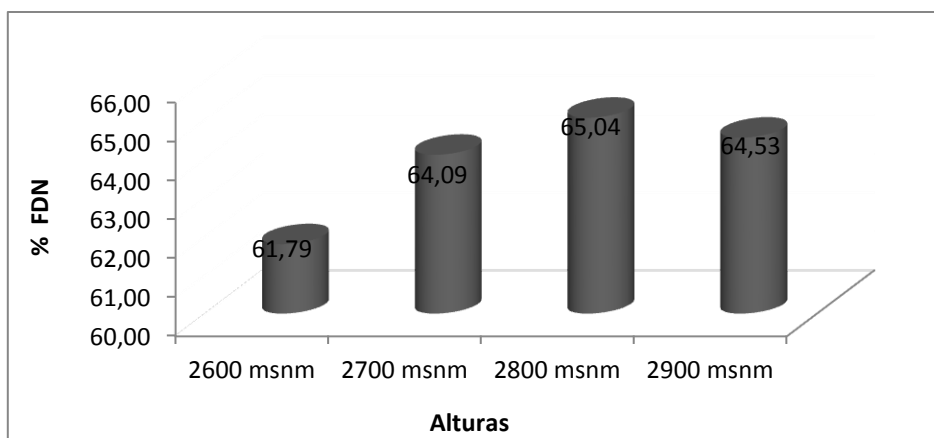


Figura 11. Contenido de FDN en Rye grass a diferentes alturas

Cuadro 21. ANALISIS PAREDES CELULARES DEL RYE GRASS A DIFERENTES ALTURAS

PARÁMETROS	ALTITUDES				Significancia	Probabilidad
	2600 msnm	2700 msnm	2800 msnm	2900 msnm		
Fibra Detergente Neutra (%)	59,25 b	60,24 a	58,54 b	56,19 c	**	<.0001
Fibra Detergente Acida (%)	35,81 b	37,10 a	38,06 a	34,93 b	**	<.0001
Lignina Acida Detergente (%)	6,95 b	6,79 b	8,50 a	6,83 b	**	<.0001

** Diferencias altamente significativas (P<.005).

Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según Duncan (P<0.05).

Elaborado: Janeta, N (2014)

Respecto a la Fibra Detergente Neutra, Velásquez, P (2009) reporta valores entre 38 y 47 % a 3300 msnm en Carchi, entre 45,8 y 59,3 % a 2200 msnm en Imbabura y entre 44 y 50,7 % a 2800 msnm en Pichincha, Carulla, J. (2013) un valor de 47,4 % a 2800 msnm en Bogotá y Cardona, M. (2001) 51,3 % a 2600 msnm en el Departamento de Nariño; pudiendo señalar que para este nutriente en el Rye grass las tablas de FEDNA (2004) reportan un valor de 46,06 % para calificarlo un forraje de segunda, observamos también que se mantiene la tendencia observada con los porcentajes de fibra cruda, debido probablemente a las características propias de cada zona donde fue cultivado el pastizal y el efecto de la temperatura y la altitud (Aguilar, J. 2005). En la figura 12 se grafica la relación entre la altura y esta variable, encontrándose una función polinomial cubica, según la fórmula de la función y la línea de tendencia.

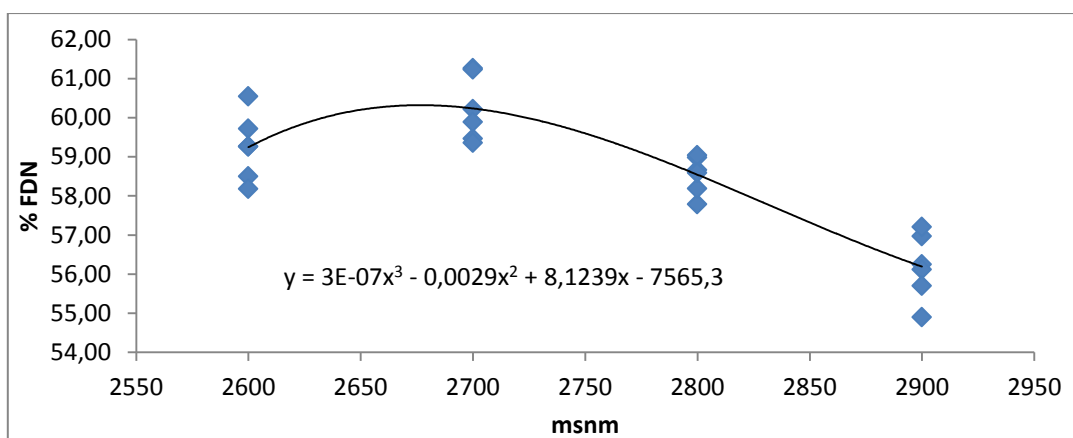


Figura 12. Análisis de regresión del contenido de FDN en relación con la altura de establecimiento del Rye grass

b. Fibra detergente acida

Las medias del Rye grass a diferentes altitudes presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), y lógicamente se mantuvo la tendencia observada con las anteriores variables; es así que los valores más altos se lograron a 2800 y 2700 msnm, con una media de 38.05 y 37.09 respectivamente, que fueron superiores estadísticamente a los otros tratamientos

que compartieron el nivel de significancia de los valores más bajos con medias de 35,8 y 34,9 respectivamente.

En cuanto a la Fibra detergente acida, Velásquez, P (2009) reporta valores entre 27,3 y 33,7 % a 3300 msnm en Carchi, entre 30,2 y 41,6 % a 2200 msnm en Imbabura y entre 29 y 35,6 % a 2800 msnm en Pichincha, Carulla, J. (2013) un valor de 28,6 % a 2800 msnm en Bogotá y Cardona, M. (2001) 26 % entre los 2500 y 3200 msnm en el Departamento de Nariño; hay que destacar para este nutriente en el Rye grass las tablas de FEDNA (2004) reportan un valor de 27,8 % para calificarlo un forraje de primera, observamos también que se mantiene la tendencia observada con los porcentajes de FC y FDN, debido probablemente al estado fenológico y la altitud donde se coseche el forraje. La relación entre esta variable y la altura se ilustra en la Figura 13, donde es observamos que corresponde a una función polinomial cubica.

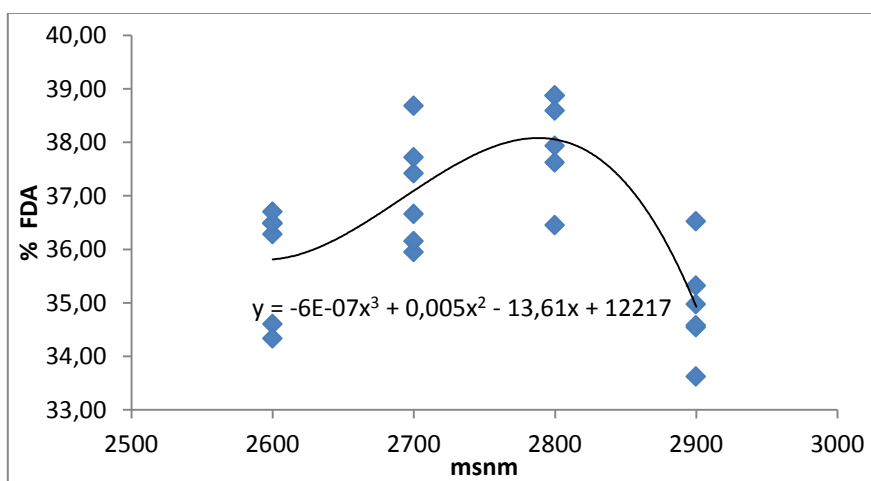


Figura 13. Análisis de regresión del contenido de FDA en relación con la altura de establecimiento del Rye grass

c. Lignina acida detergente

En cuanto a esta variable de estudio se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), entre las medias de los diferentes tratamientos, por efecto de la altura, los valores más altos se obtuvieron a 2800 msnm (Figura

14), con un valor promedio de 8,5; que difiere estadísticamente de las demás altitudes según Duncan ($P>0,5$), los tratamientos de 2600, 2900 y 2700 msnm, reportaron valores medios de 6.9, 6.8 y 6.7 respectivamente; al respecto de esta variable las tablas de FEDNA (2004), reportan valores entre 2,3 y 5,3 para calificarlos como forrajes con un valor referencial alto, de estos resultados podemos esperar una menor digestibilidad del tratamiento que reporta un promedio más alto de LAD, ya que generalmente este valor se utiliza como una medida para la estimación de la fracción indigestible del alimento.

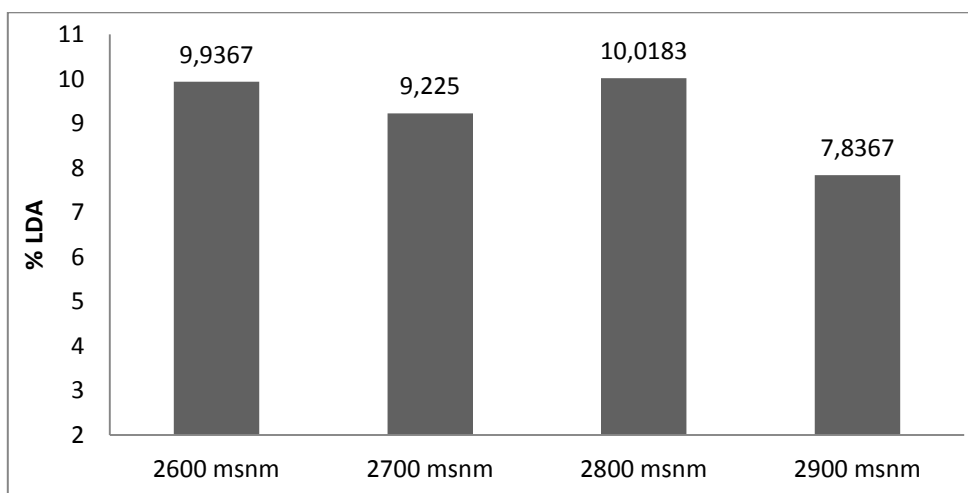


Figura 14. Contenido de LAD en Rye grass a diferentes alturas

Jung, H. (1997) afirma que la lignina acida detergente ha sido utilizada como indicador de la digestibilidad, al encontrarse negativamente relacionada con la digestibilidad in vivo e in vitro de la materia orgánica y la fibra neutro detergente.

En la figura 15 se grafica la relación entre la altura y la lignina acida detergente, encontrándose un función polinomial cubica, según la fórmula de la función y la línea de tendencia.

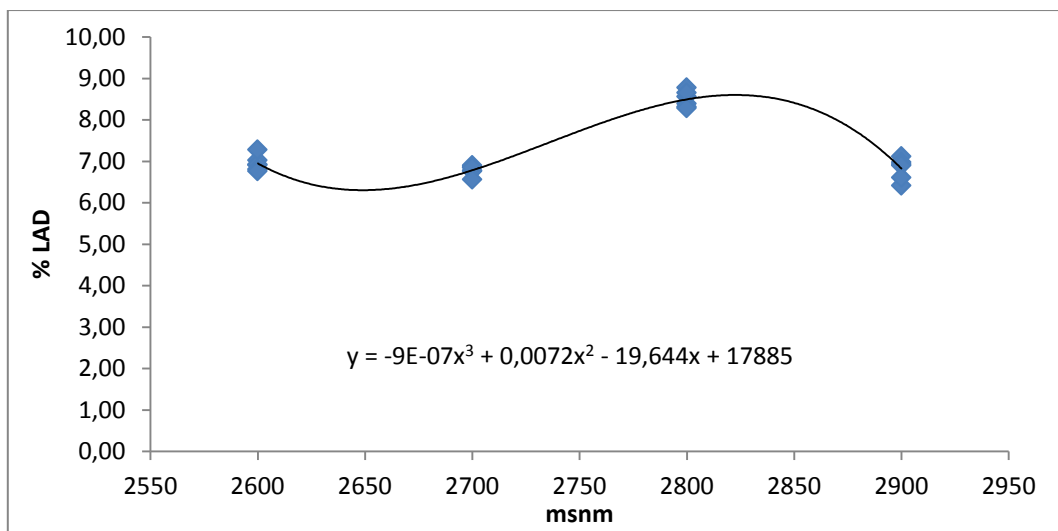


Figura 15. Análisis de regresión del contenido de LAD en relación con la altura de establecimiento del Rye grass

3. Propiedades físico-químicas

Los resultados encontrados en el análisis de las propiedades físicas y dos métodos de digestibilidad del Rye grass cultivado a diferentes alturas se reportan en el Cuadro 22.

a. Solubilidad

Al analizar esta variable de estudio, se observó que se presentaron diferencias significativas ($P < 0.0001$) por efecto de la altura, y se mantuvo la tendencia ya observada en las anteriores variables, es decir numéricamente la muestra más soluble fue la del Rye grass a 2900 msnm, con un valor de 29,02; aunque estadísticamente compartió el rango de significancia con las altitudes de 2800 y 2600 msnm (28,5 y 27,8 respectivamente). Finalmente las muestras de Rye

Cuadro 22. PROPIEDADES FISICO QUÍMICAS Y DOS MÉTODOS DE DIGESTIBILIDAD DEL RYE GRASS A DIFERENTES ALTURAS

PARÁMETROS	ALTITUDES								Significancia	Probabilidad
	2600 msnm	2700 msnm	2800 msnm	2900 msnm	2600 msnm	2700 msnm	2800 msnm	2900 msnm		
Solubilidad (%)	27,85 a	25,57 b	28,53 a	29,02 a					**	0.0002
Absorción de agua (g)	6,25 b	7,16 a	6,70 ab	6,37 b					**	0.0033
Capacidad bufferante acida (Meq)	0,30 a	0,31 a	0,31 a	0,31 a					ns	0.6187
Capacidad bufferante básica (Meq)	0,25 b	0,24 b	0,26 b	0,30 a					**	<.0001
Digestibilidad MS Licor cecal (%)	61,00 c	62,4 b	63,88 a	64,16 a					**	<.0001
Digestibilidad MS Viscozyme (%)	56,9 b	50,68 d	53,56 c	58,78 a					**	<.0001

** Diferencias altamente significativas (P<.005).

Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según Duncan (P<0.05).

Elaborado: Janeta, N (2014)

grass a 2700 msnm fueron inferiores estadísticamente, con un valor promedio de 25,5, debido probablemente a que el incremento de temperatura asociado con la disminución de altitud, provoca un incremento en la cantidad de lignina, especialmente en la nervadura central de las gramíneas.

Dihigo (2004) reporta valores de solubilidad de 27.44 para harinas de forrajes como la alfalfa y 22,77 para la morera; mientras que para otros alimentos no convencionales como pulpa de cítrico, 28,8, esta digestibilidad alta seguramente debido al contenido de pectina como fracción de fibra soluble. La relación entre esta variable y la altura se ilustra en la Figura 16, donde observamos que corresponde a una función polinomial cubica.

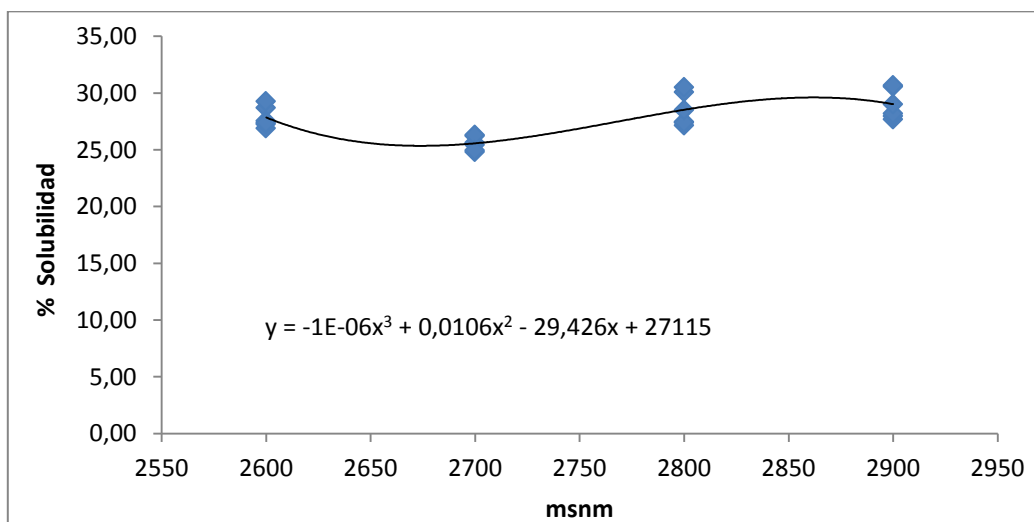


Figura 16. Análisis de regresión de la solubilidad del Rye grass en relación con la altura de establecimiento

b. Absorción de agua

Los valores más altos para absorción de agua se encontraron a 2700 msnm, con una media de 7,2, el cual fue superior estadísticamente ($P < 0.0001$), respecto a las otras altitudes bajo investigación, es así que a 2900 y 2600, se registraron medias de 6,3 y 6,2 respectivamente y se encuentran en el menor

rango de significancia, de acuerdo a Duncan ($P < 0.05$), mientras que el nivel 2800 msnm (T3), registró una media de 6,5 y compartió ambos rangos de significancia (Figura 17).

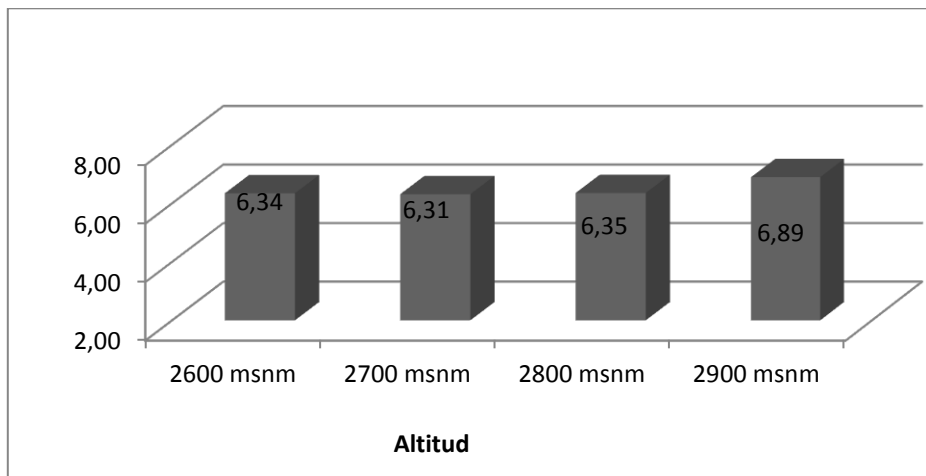


Figura 17. Absorción de agua del Rye grass de diferentes alturas

De los datos obtenidos podemos deducir que la absorción de agua varía en función de los nutrientes ligados a los distintos componentes de las paredes celulares. La relación entre esta variable y la altura se ilustra en la Figura 18, donde podemos observar que corresponde a una función polinomial cubica.

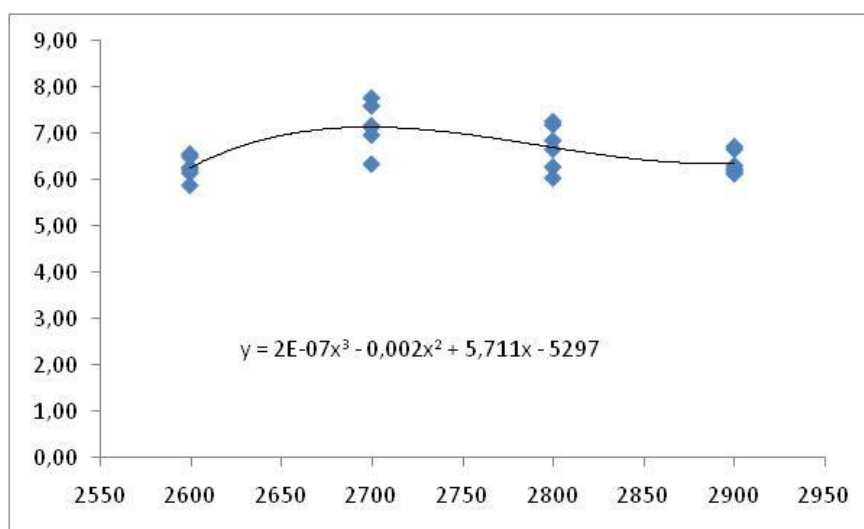


Figura 18. Análisis de regresión de la absorción de agua del Rye grass en relación con la altura de establecimiento

Dihigo (2004) reporta valores de Capacidad de absorción de agua entre 6.92 y 9.16, valores que están dentro de lo encontrado en la presente investigación

Esta característica no es más que la capacidad que tiene la fibra de hincharse y retener agua en su matriz fibrosa, la cual está en proporción relativa con los polisacáridos que la componen (Savón 2002). Así, la hemicelulosa posee un mayor poder higroscópico que la celulosa, el que es casi nulo en la lignina.

Esta característica pudiera ser favorable para la digestión de la fibra, ya que la humedad facilita la hidrólisis por la enzima celulasa (Marrero 1999). Esta propiedad de la fibra diluye el contenido cólico y por consiguiente, las heces modifican su característica al incrementar su peso, por mayor contenido en agua, reduciendo así su MS (Dihigo, 2004).

c. Capacidad bufferante acida

El análisis de varianza (ADEVA), de la capacidad bufferante acida por efecto de la altura no registró diferencias estadísticas ($P > 0.05$), pero si numéricamente entre las medias de los diferentes tratamientos encontrándose que el promedio más alto fue el de las muestras a 2900 msnm (T4), con un valor promedio de 0,31. y el promedio más bajo fue el hallado a 2600 msnm (T1), con un valor medio de 0,298, al respecto Dihigo (2004) reporta valores de Capacidad de absorción de agua entre 0.46 y 0.82 m-equiv, valores que están dentro de lo encontrado en la presente investigación.

El mayor poder amortiguador ante los ácidos ($P < 0.001$) fue a 2900 msnm, quizás por un probable contenido mayor de calcio (Maldonado y col. 2000, García 2003, Scull) a esta altitud, considerando que el calcio en las gramíneas no está asociado a las paredes celulares y por lo tanto está más disponible que en las leguminosas y según Carulla (2013) en las zonas altas el valor se incrementa hasta 0,66 % de Ca disponible; esto pudiera originar un aumento del pH a nivel

del estómago con una disminución de la digestibilidad de las fracciones proteicas del pienso.

d. Capacidad bufferante básica

El análisis de varianza (ADEVA), de las medias en cuanto se refiere a la capacidad bufferante básica, registraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.0001$), por efecto de la altura, observándose el valor más alto a 2900 msnm, con una media de 0.298, la cual es estadísticamente superior a los tratamientos de 2800, 2600 y 2700 msnm, que compartieron el mismo rango de significancia de acuerdo a Duncan ($P < 0.05$), con medias de 0.26, 0.25 y 0.24, respectivamente como lo podemos apreciar en el análisis de regresión de la figura 19, donde se observa una función cuadrática al relacionar la altura con esta variable. El coeficiente de variación registrado para esta medición fue de 5.6, lo que indica que existe confiabilidad en los datos experimentales con mínimas variaciones que se demuestran en los valores de la desviación estándar y el error típico promedio.

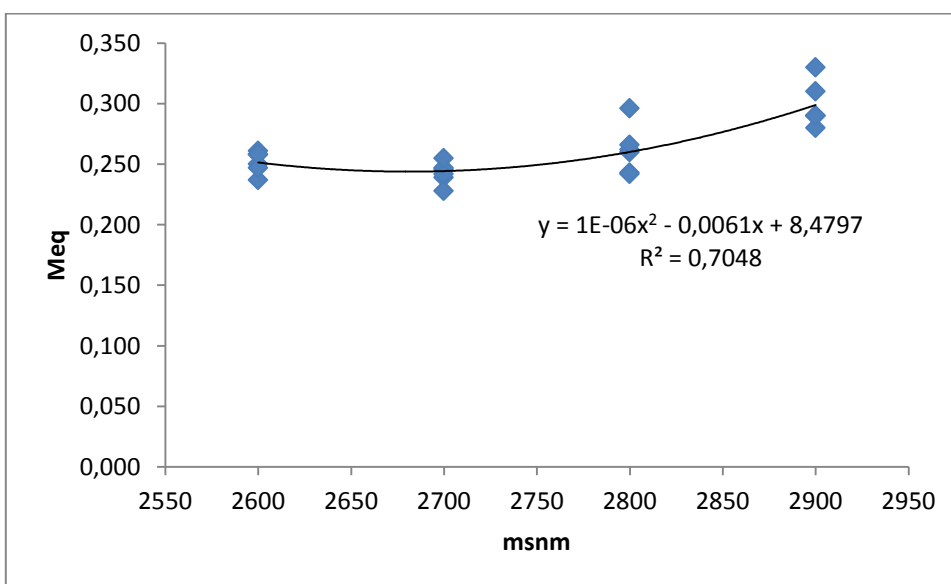


Figura 19. Capacidad bufferante básica de la fibra del Rye grass

4. Digestibilidad in-vitro

a. Digestibilidad método licor cecal

La digestibilidad de la materia seca del Rye grass a través del método del licor cecal, registro diferencias altamente significativas ($P < 0,001$), es así que la mayor digestibilidad se presentó en el Rye grass cultivado a 2900 m y a 2800 m, con coeficientes de 64.16 y 63.88 respectivamente, los cuales fueron superiores al Rye grass de 2700 m (62.4) y este a su vez superior al cultivado a 2600 m, que tuvo la menor digestibilidad con un coeficiente de 61; estos valores confirma la tendencia de los otros datos, es decir el Rye grass a 2900 contenía menor cantidad de FDN, FDA y LAD, lo cual hacía suponer una mayor digestibilidad y en esta variable se comprueba aquello, como se ilustra en el análisis de regresión en el Figura 20, que nos indica una función lineal al relacionar estas dos variables.

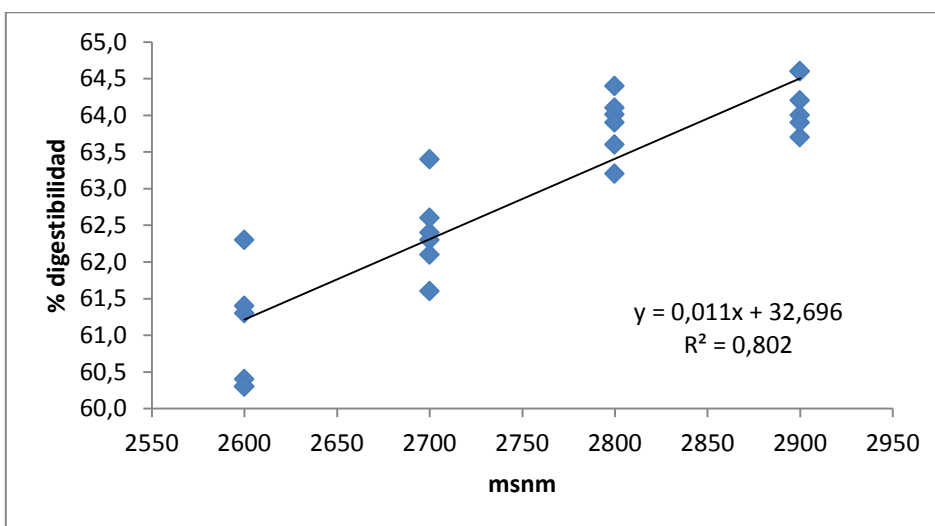


Figura 20. Digestibilidad in vitro del Rye grass, método del licor cecal

Nieves, V. (2008), en su investigación reporta valores entre 57,62 y 57,84 para la digestibilidad aparente a través de métodos in vitro en conejos. Arce, C (2003),

en su estudio de dos métodos de laboratorio para la determinación de la digestibilidad en forrajes, reporta valores entre 62,25 y 64,5 para distintas especies de Rye grass, valores que se encuentran dentro de lo reportado en la presente investigación.

Torres *et al* (2009) reportan valores de digestibilidad in vivo en ovinos entre 70,9 y 74,2 a través de su estudio realizado en varios forrajes, entre ellos el Rye grass, Leyva L. *et al.* 2001 en su investigación para determinar la digestibilidad in vitro en alpacas utilizando diferentes proporciones de saliva artificial y flora microbiana reporta valores para el Rye grass de 3 a 4 semanas entre 84,36 y 87, 22, mientras que para el Rye grass de 7 a 8 semanas el rango fue de 79,1 a 86,5 % de digestibilidad aparente.

Alvarez, E. *et al.* (2006), reporta una digestibilidad de 83,9 para el Rye grass a través del método in vivo en novillos Holstein, en su investigación comparando el valor alimenticio del kikuyo versus el Rye grass en dos estaciones de crecimiento, en Mexicali, Baja California, México a una altitud de 12 msnm.

Todas estas investigaciones presentan valores superiores a lo encontrado en el presente experimento, a través del método del licor cecal, sin embargo esto se explica al haber sido realizadas todas en rumiantes, que por la fisiología y fermentación ruminal tienen una mayor digestibilidad aparente que los monogástricos, a pesar de la fermentación que tiene lugar en el ciego de varias de estas especies.

b. Digestibilidad método pepsina - pancreatina -Viscozyme

El análisis de varianza de la digestibilidad de la materia seca con el método de Viscozyme por efecto de la altura en el Rye grass, registró diferencias altamente significativas ($P < 0,001$), encontrándose que el promedio más alto y superior a todos los demás fue a 2900 m (58.78), seguido de 2600 m (56.9), a continuación

2800 m (53.56); finalmente el promedio inferior estadísticamente se reportó a 2700 m, con un valor de 50.68.

Saucedo, F (2004), reporta un valor de 65,4 %, este valor podría sin embargo estar influenciado por la época de corte, es decir el estado fenológico de la planta.

El coeficiente de variación fue de 1,13, lo cual indica la confiabilidad de los datos y poca variación entre las medias de los tratamientos en estudio, el análisis de la regresión mostro una función polinomial cuadrática como se observa en la Figura 21.

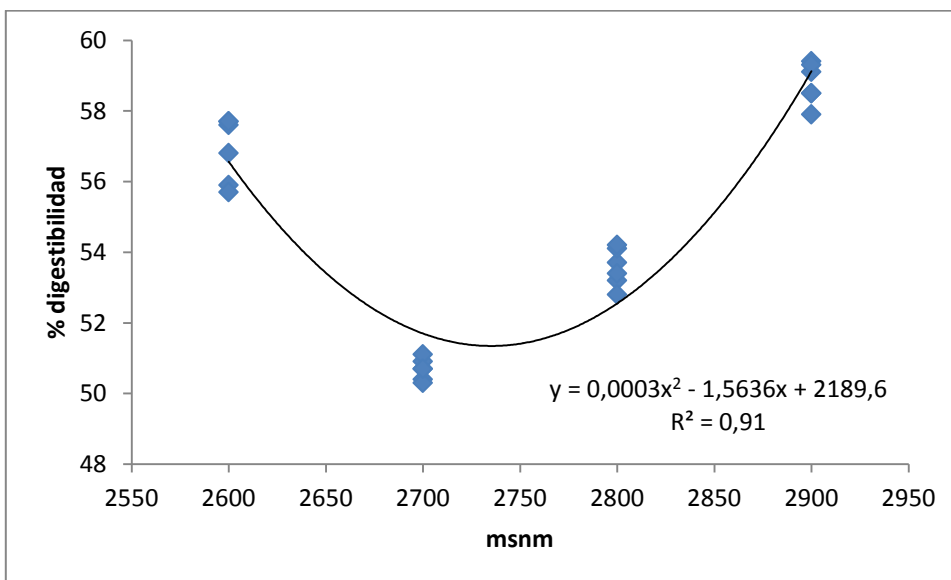


Figura 21. Digestibilidad in vitro del Rye grass, método Viscozyme

B. PASTO AZUL

1. Análisis proximal

Los resultados obtenidos en los diferentes pisos altitudinales para el Pasto azul, en cuanto a composición química, se resumen en el cuadro 23.

a. Humedad

Para la variable humedad las medias de las diferentes alturas presentaron diferencias significativas, encontrándose el menor contenido de humedad a 2800 msnm, con un valor de 6.9; seguido de 2900 msnm, con un valor de 7.09 %, y ambos difieren estadísticamente de las altitudes de 2700 y 2600 msnm con medias de 8.19 y 7.70 % respectivamente. Debemos considerar la misma particularidad que en el Rye grass, es decir que en las plantas C3, la síntesis y almacenamiento de carbohidratos de reserva (fructosanos) que se incrementa por factores que reducen la utilización del carbono (como la altitud las bajas temperaturas); es así que al ser mayor la concentración de carbohidratos de reserva probablemente el contenido de agua en las estructuras de la planta será menor.

b. Proteína bruta

La proteína bruta del pasto azul reportó diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), por efecto de la altura, observándose los valores más altos a 2900 msnm, con un valor medio de 17.8 %, en el siguiente rango de significancia se ubicó T2 con un valor de 15.7; el mismo que compartió a su vez rango con T1 (15.6), finalmente el valor más bajo estadísticamente se obtuvo a 2800 msnm con un valor de 14.13; con lo cual confirmamos que la diferencia fue significativa

Cuadro 23. ANALISIS PROXIMAL DEL PASTO AZUL A DIFERENTES ALTURAS

PARÁMETROS	ALTITUDES				Significancia	Probabilidad
	2600 msnm	2700 msnm	2800 msnm	2900 msnm		
Humedad total (%)	79,80 a	79,35 a	78,70 a	79,02 a	ns	0.3955
Proteína bruta (%)	15,57 b	15,70 b	14,13 c	17,80 a	**	<.0001
Proteína verdadera (%)	12,23 c	13,60 ab	13,46 b	14,05 a	**	<.0001
Ceniza (%)	12,55 a	12,18 a	12,13 a	12,51 a	ns	0.3552
Fibra cruda (%)	31,71 a	30,70 b	30,53 b	26,92 c	**	<.0001
Extracto etéreo (%)	3,62 a	2,96 b	2,93 b	2,89 b	**	<.0001
Extracto libre de nitrógeno (%)	33,30 bc	32,97 c	34,30 b	36,70 a	**	<.0001

** Diferencias altamente significativas ($P < .005$).

Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según Duncan ($P < 0.05$).

Elaborado: Janeta, N (2014).

entre las medias de las diferentes alturas, debido probablemente a que la temperatura se incrementa conforme disminuye la altitud, lo cual en las gramíneas provoca la lignificación de la nervadura central, incrementando el porcentaje de materia seca pero disminuyendo significativamente su digestibilidad.

Estos valores son significativamente más altos que lo reportado por Cedeño, A (2011) en su estudio realizado en la Universidad de Nariño, donde encontró un valor de 11,6 de proteína bruta, entre los 2500 y 3200 msnm, y por Gualli, M.(2012), quien reporta un valor promedio de 11.77 a 2800 msnm en Chimborazo. Investigaciones en otros países reportan valores más heterogéneos, es así que Ortega, F. *et al* (2013), reportan promedios de PC de 12.4, 19.2 y 17.2 %, en distintas zonas de Chile, a 200, 15 y 93 msnm respectivamente, Villa-Méndez (2010), indica que el valor promedio es de 20.21 % en la zona de Michoacán, México y Muñoz, F.(1999), reporta un promedio de 16.85 % a 500 msnm en la zona de Monegro, Zaragoza; finalmente Robalino, N. (2010), en su investigación cita los valores reportados por el INIAP para el pasto azul, que son de entre 14,5 y 16, 5 dependiendo del estado fenológico de la planta, valores que son muy similares a lo reportado en la presente, vemos entonces que la diferencia en cuanto a proteína, se debe principalmente a la composición particular de la variedad de pasto azul predominante en cada país. El análisis de regresión de esta variable en función de la altura de establecimiento del pasto presento una función polinomial cubica (Figura 22).

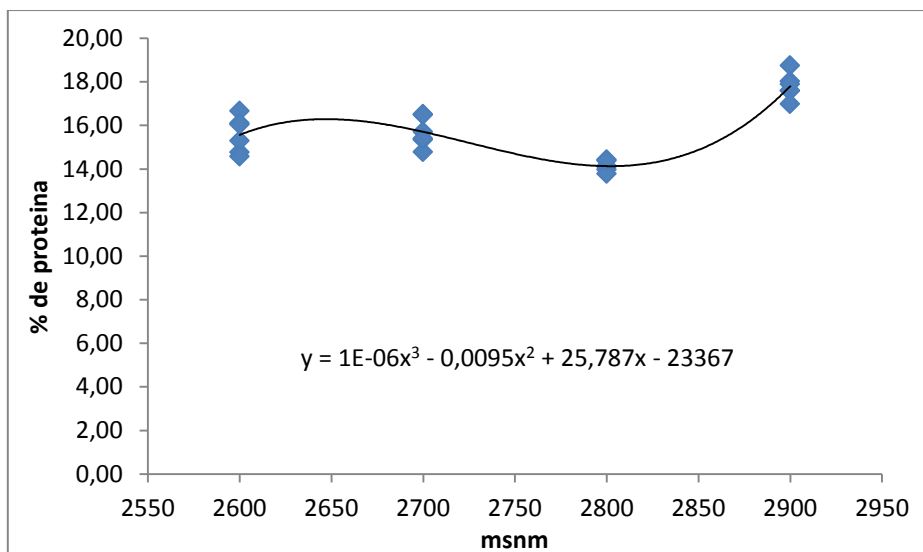


Figura 22. Análisis de regresión del contenido de proteína bruta en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.

c. Proteína verdadera

Al finalizar el análisis proximal las medias de la proteína verdadera del Pasto azul, presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0,0001$), la mejor respuesta se evidenció en las muestras recolectadas a 2900 (T4) msnm con un porcentaje de 14,05 el cual no difiere estadísticamente de T2 (2700 msnm) que tuvo una media de 13,6 y este a su vez no difiere con T3 (2800 msnm), finalmente T1 (2600 msnm) tuvo el menor rango de significancia según Duncan ($P < 0,05$), con una media de 12,22. Estos valores responden a lo afirmado por Aguilar (2005), quien afirma que la proteína se incrementa a medida que disminuye la temperatura, en este caso en relación directa con el incremento de altitud; por un más eficiente metabolismo fotosintético, produciéndose más glucosa y a partir de ella, por diversas reacciones químicas proteínas y lípidos. La relación entre esta variable y la altura se ilustra en la Figura 23, donde observamos que corresponde a una función polinomial cubica.

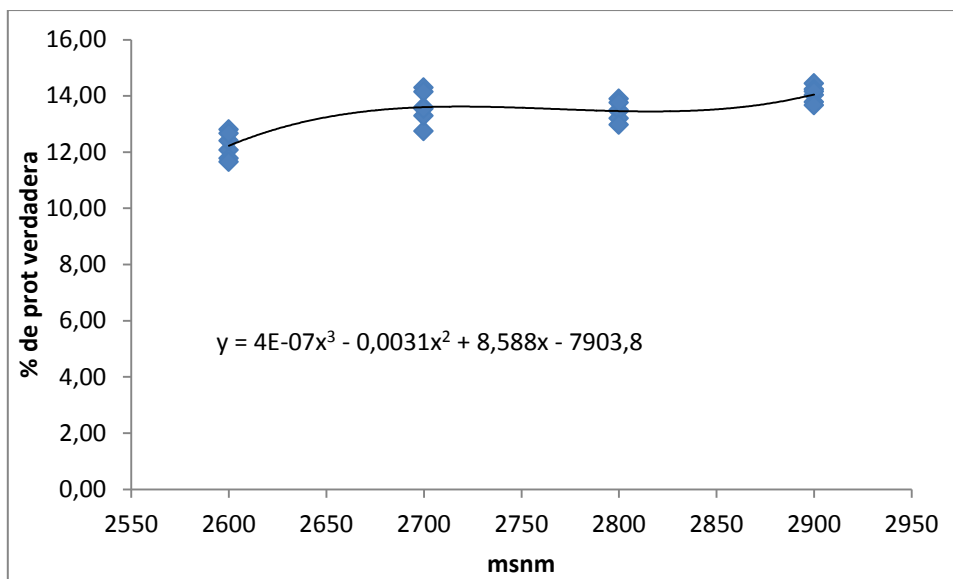


Figura 23. Análisis de regresión del contenido de proteína verdadera en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.

d. Ceniza

Los resultados observados de las medias en cuanto se refiere a la variable Ceniza no presentaron diferencias significativas ($P < 0.35$), por efecto de la altura de siembra del Pasto azul, reportándose sin embargo diferencias numéricas y los valores porcentuales fueron 12.55, 12.5, 12.18 y 12.12 para 2600, 2900, 2700 y 2800 msnm respectivamente; lo cual refleja probablemente un mayor contenido de minerales debido tal vez a la mayor altitud de establecimiento del pastizal, como lo reporto en su investigación Carulla, J. (2013), que afirma se puede dar un incremento de hasta 0,66 % de Ca a 3000 msnm.

Al respecto de esta variable, Gualli, M.(2012), reporta un valor promedio de 7.23 % a 2800 msnm en el cantón Riobamba; por su parte Villa-Méndez (2010), indica que el valor promedio es de 17.43 % en la zona de Michoacán, México y Muñoz, F.(1999), reporta un promedio de 13.59 % a 500 msnm en la zona de Monegro, Zaragoza, durante el Otoño, valores que están dentro del rango encontrado en el presente experimento.

e. Fibra cruda

Las medias de la fibra cruda de las muestras bajo investigación evidenciaron diferencias estadísticas ($P < 0.001$), por efecto de la altura, encontrándose los valores más altos a 2600 msnm, con una media de 31,7, que fue superior estadísticamente a las demás; a continuación se ubicaron las altitudes a 2700 y 2800 msnm, los cuales obtuvieron medias de 30,7 y 30,5 % respectivamente, finalmente se ubicó T4 (2900 msnm) con el menor valor de fibra cruda reporto una media de 26,9 %, Gualli, M. (2010), en su investigación reporta un valor promedio de 27.9 % a 2800 msnm, mientras que Robalino, N (2010), en su investigación realizada a 2600 msnm, indica un promedio de 28 % de FC, valores que se aproximan a lo obtenido en el presente experimento (Figura 24). La relación entre la fibra cruda y la altura de establecimiento se ilustra en la Figura 25, donde observamos que corresponde a una función polinomial cubica.

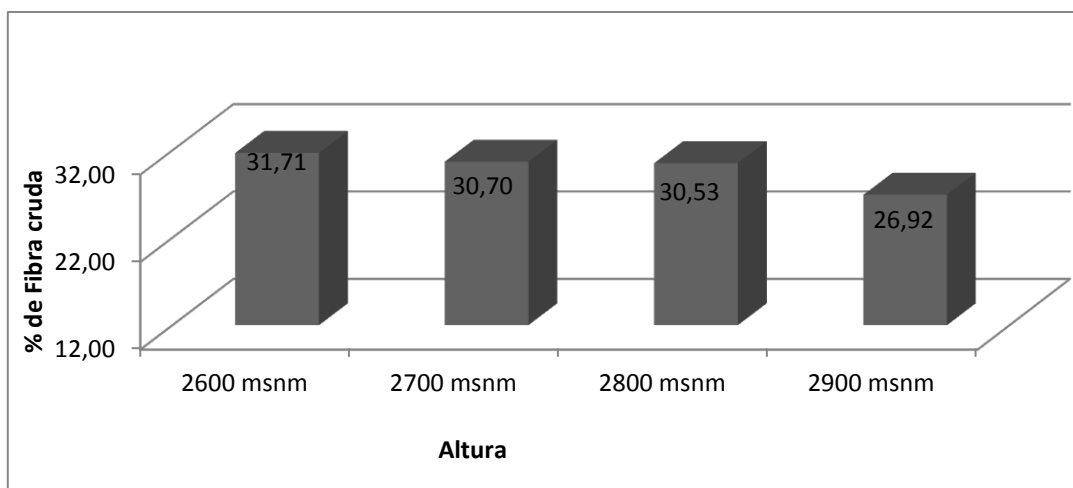


Figura 24. Fibra cruda de Pasto azul de diferentes alturas

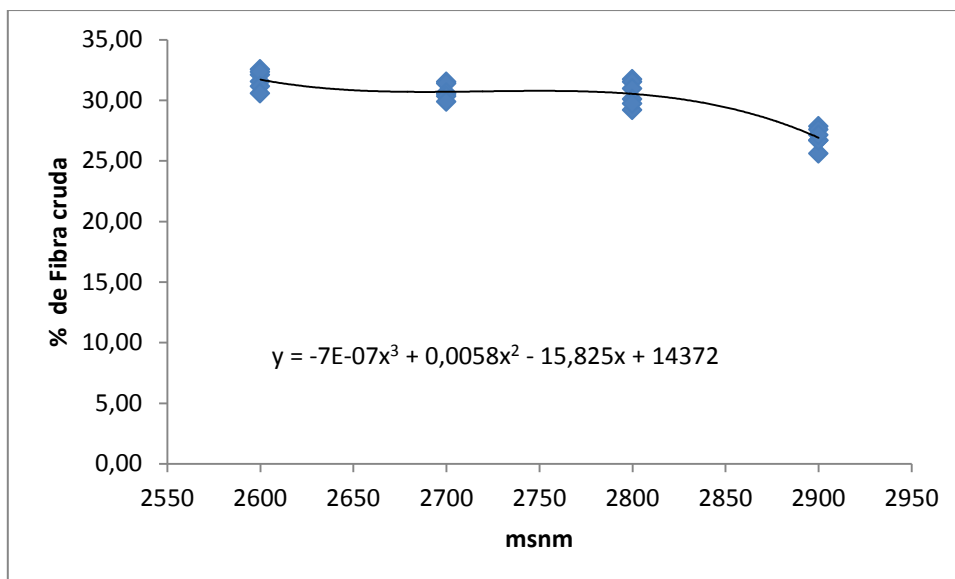


Figura 25. Análisis de regresión del contenido de fibra cruda en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.

f. Extracto etéreo

Las medias encontradas en cuanto a extracto etéreo presentaron diferencias significativas ($P < 0.0001$), siendo numéricamente los mayores porcentajes a 2600 msnm, con una media de 3.62 %, la cual es superior estadísticamente a los valores obtenidos a 2700, 2800 y 2900 msnm, que reportaron valores de 2.96, 2.93 y 2.88 %; respecto a esta variable Gualli, M (2010), en su investigación de tesis realizada en Riobamba reporta un valor de 1.69 %, Suquilanda, M.(2003) menciona hallazgos de 1,6 % respecto a esta variable, finalmente Villa-Méndez (2010), indica que el valor promedio es de 1.7 % en los altiplanos de la zona de Michoacán, México, a 1900 msnm, valores que son inferiores a los encontrados en el presente experimento, esto debido probablemente a la diferencia en las condiciones de manejo del pasto. La relación entre esta variable y la altura se ilustra en la Figura 26, donde observamos que corresponde a una función polinomial cubica.

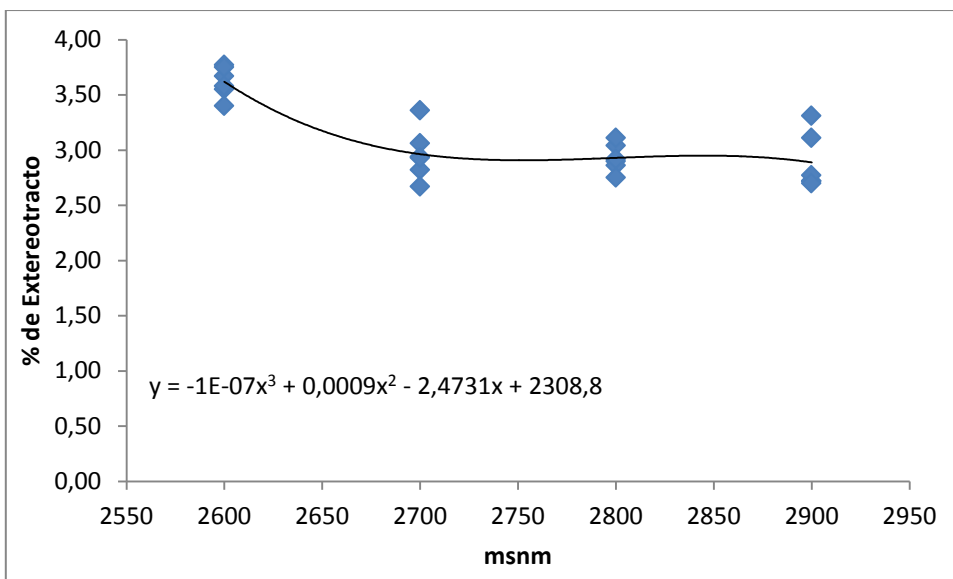


Figura 26. Análisis de regresión del contenido de extracto etéreo en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.

g. Extracto libre de nitrógeno

Al obtener el análisis proximal, las medias de las muestras estudiadas reportaron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), registrándose los mejores valores en las muestras de 2900 msnm, que reportó una media de 36,69 % y fue superior estadísticamente a los demás, a continuación T3 (2800) y T1 (2600) con valores de 34,3 y 33,3 % respectivamente; finalmente con una media de 32,9 % el tratamiento T2 (2700 msnm) fue estadísticamente inferior a los demás; valores que sugieren una mayor disponibilidad de energía y una mayor digestibilidad de los nutrientes del pasto azul cultivado a 2900 msnm.

2. Análisis de paredes celulares

Los resultados obtenidos en los diferentes pisos altitudinales para el Pasto azul, en cuanto a paredes celulares, se resumen en el cuadro 24.

Cuadro 24. ANALISIS DE PAREDES CELULARES DEL PASTO AZUL A DIFERENTES ALTURAS

PARÁMETROS	ALTITUDES				Significancia	Probabilidad
	2600 msnm	2700 msnm	2800 msnm	2900 msnm		
Fibra Detergente Neutra (%)	61,79 c	64,09 b	65,04 a	64,53 ab	**	<.0001
Fibra Detergente Acida (%)	40,46 a	38,20 b	40,01 a	39,78 a	**	<.0001
Lignina Acida Detergente (%)	9,94 a	9,23 b	10,02 a	7,84 c	**	<.0001

** Diferencias altamente significativas (P<.005).

Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según Duncan (P<0.05).

Elaborado: Janeta, N (2014).

a. Fibra detergente neutra

La Fibra detergente neutra reportó diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), por efecto de la altura, observándose los valores más altos a 2800 msnm, con un valor medio de 65.03, compartiendo rango de significancia con T4 con un valor de 64,5; el mismo que compartió a su vez rango con T2 (64.09), finalmente el valor más bajo estadísticamente se obtuvo a 2600 msnm con un valor de 61,79; con lo cual confirmamos que la diferencia fue significativa entre las medias de las distintas altitudes. El análisis de regresión presentó una función polinomial cubica al relacionar esta variable con la altura de establecimiento (Figura 27).

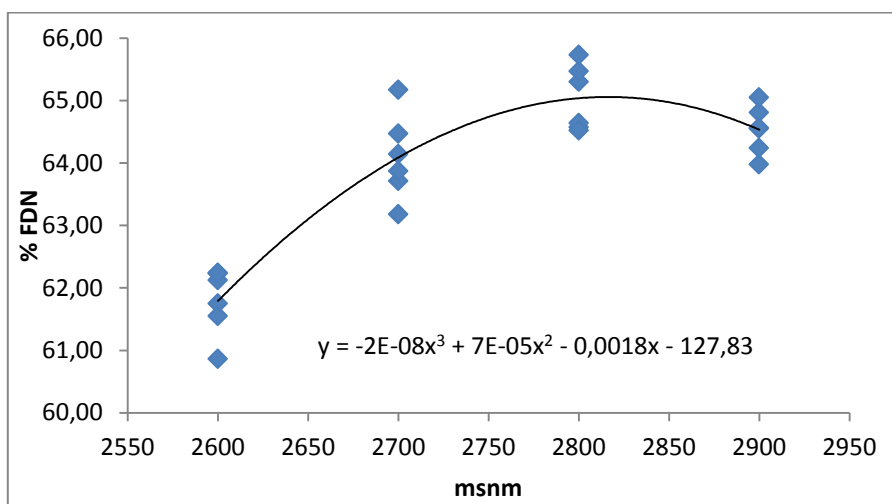


Figura 27. Análisis de regresión del contenido de FDN en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.

Al relacionar con los análisis de Villa-Méndez (2010), indica que el valor promedio es de 52.19 % a 1900 msnm en la zona de Michoacán, valor inferior a lo reportado en la presente investigación, Ortega, F. *et al* (2013), reportan promedios de FDN de 53.1, 51.1 y 53.7 %, en distintas zonas de Chile, a 200, 15 y 93 msnm respectivamente, mientras que Robalino, N. (2010)

menciona un valor promedio de 62.8 % de FDN a 2600 msnm en la parroquia de Nono, Pichincha , finalmente Muñoz, F.(1999), reporta un promedio de 59.67 % a 500 msnm en la zona de Monegro, Zaragoza; valores de estas dos investigaciones que se acercan más a lo obtenido en este experimento.

b. Fibra detergente acida

Las medias de las muestras de pasto azul a diferentes altitudes presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), es así que los valores más altos se lograron a 2600, 2800 y 2900 msnm, con medias de 40.4, 40.01 y 39.8 respectivamente, que fueron superiores estadísticamente a la altura que reporto el valor más bajo con una media de 38.2, como se reporta en la figura 28.

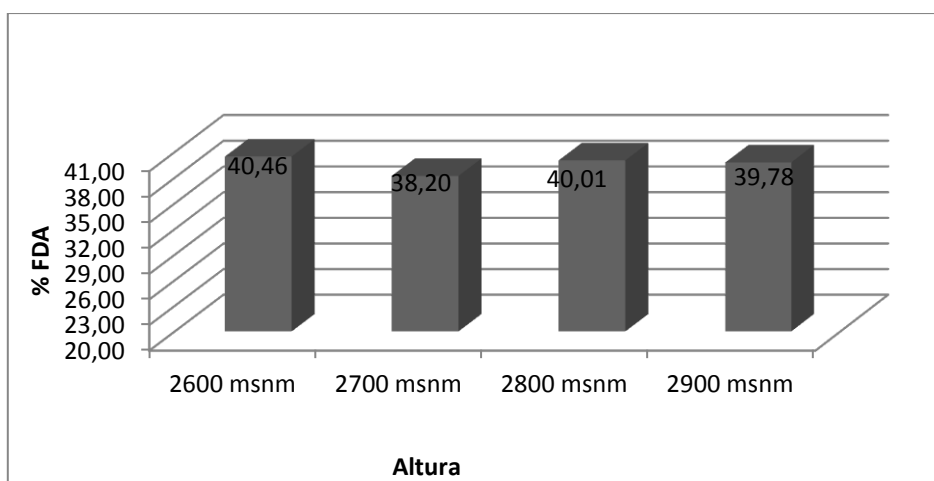


Figura 28. Contenido de FDA del Pasto azul de diferentes alturas.

El contenido de FDA que reporta Muñoz, F. (1999), en la zona de Monegro, Zaragoza es de 35.63 %, mientras que Villa-Méndez (2010), de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, indica que el valor promedio es de 8.99 % en la zona de Taranbero en Michoacán, y Robalino, N. (2010) reporta en su investigación en un valor promedio de 30.5 % al inicio de la floración a 2600

msnm, valores que son inferiores a los obtenidos en la presente investigación esto debido probablemente al estado fenológico de la planta al momento del muestreo. El análisis de regresión para esta variable en función de altura se resume en la figura 29, con una línea de tendencia y formula que indican una función polinomial cubica.

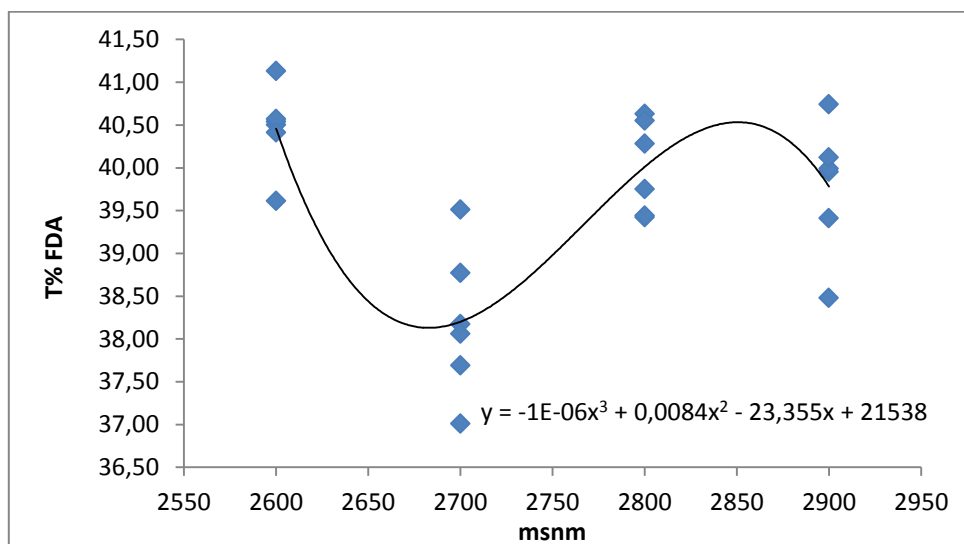


Figura 29. Análisis de regresión del contenido de FDA en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.

c. Lignina acida detergente

En cuanto a esta variable de estudio se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$), entre las medias de las muestras estudiadas, por efecto de la altura, los valores más altos se obtuvieron a 2800 y 2600 msnm, con un valor promedio de 10.01 y 9,93 respectivamente; que difiere estadísticamente de las demás alturas según Duncan ($P > 0,5$), el tratamiento de 2700 msnm, reporto un valor de 9.22 y el valor inferior estadísticamente fue de 7.8 que corresponde a T4 (2900 msnm), como se reporta en la Figura 30.

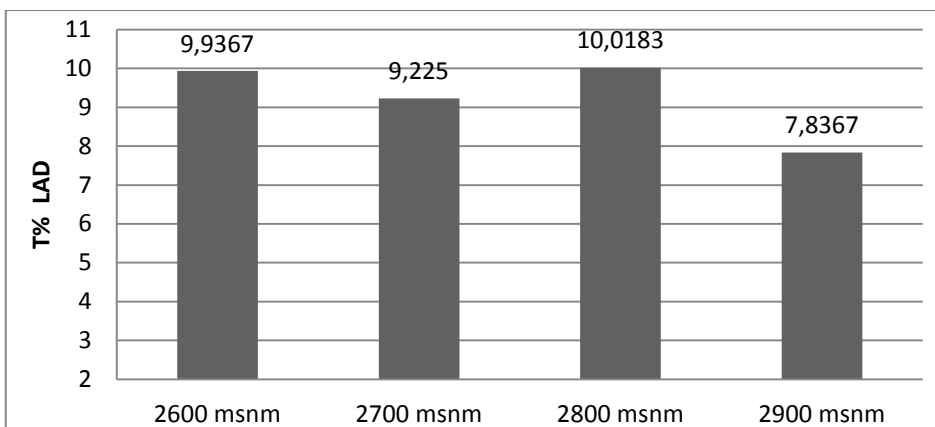


Figura 30. Contenido LAD en el Pasto azul a diferentes alturas

Villa-Méndez (2010), en su estudio reporta un valor de LAD de 12.6 %, mientras que Muñoz, F. (1999), a 500 msnm en la zona de Monegro, Zaragoza; reporta un valor promedio de 5.16 %, valor que es inferior a lo reportado en esta investigación debido probablemente a la presencia de 4 estaciones en esta región del mediterráneo. El análisis de regresión de esta variable en función de la altura se resume en la Figura 31, donde observamos que corresponde una función polinomial cubica

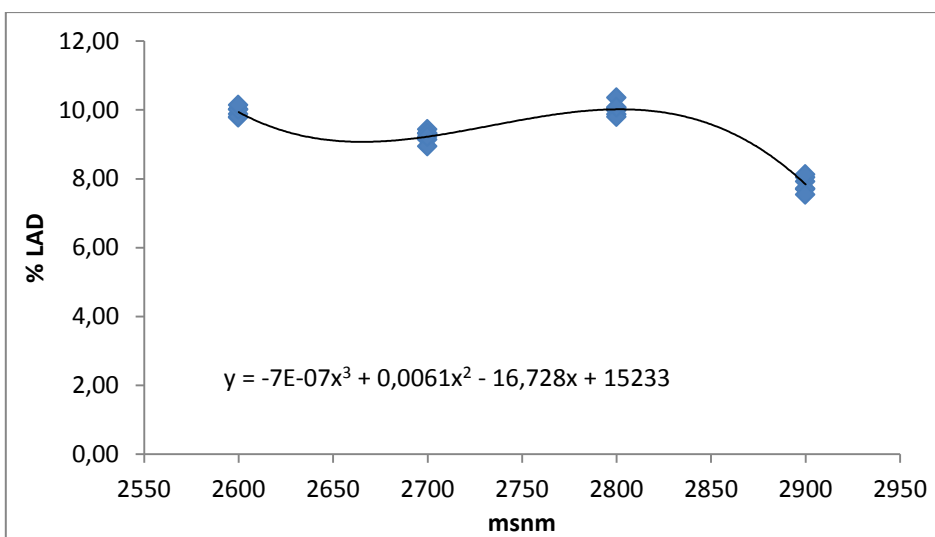


Figura 31. Análisis de regresión del contenido de LAD en relación con la altura de establecimiento del Pasto azul.

3. Propiedades físico-químicas

El resumen de las propiedades físico químicas y dos métodos de digestibilidad del Pasto azul cultivado a diferentes alturas se reportan en el Cuadro 25.

a. Solubilidad

Al analizar esta variable de estudio, se observó que se presentaron diferencias significativas ($P < 0.0001$) por efecto de la altura, y se mantuvo la tendencia ya observada en las anteriores variables, es decir numéricamente la muestra más soluble fue la del Rye grass a 2900 msnm, con un valor de 29,02; aunque estadísticamente compartió el rango de significancia con 2800, finalmente T1 y T2 (23,8 y 23,18 respectivamente) fueron inferiores estadísticamente.

Dihigo, L. (2007), en su investigación reporta una solubilidad de 22,77 % para la morera y de 27.44 % para la alfalfa, valores que si bien similares, marcan una diferencia, esto debido probablemente a que las hojas de las leguminosas no tienen funciones estructurales, por lo cual no se lignifican en función de la temperatura o altitud. El análisis de regresión para esta variable en función de altura se resume en la figura 32, con una línea de tendencia y fórmula que indican una función polinomial cubica.

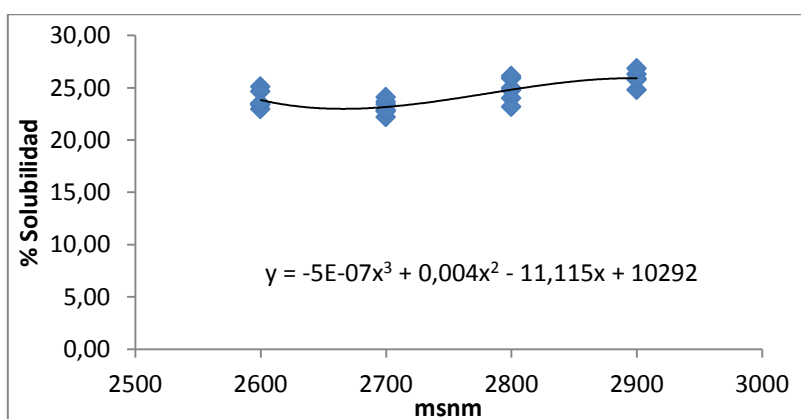


Figura 32. Análisis de regresión de la solubilidad del Pasto azul en relación con la altura de establecimiento.

Cuadro 25. PROPIEDADES FISICO QUÍMICAS Y DOS MÉTODOS DE DIGESTIBILIDAD DEL PASTO AZUL A DIFERENTES ALTURAS

PARÁMETROS	ALTITUDES				Significancia	Probabilidad
	2600 msnm	2700 msnm	2800 msnm	2900 msnm		
Solubilidad (%)	23,83 bc	23,16 c	24,81 ab	25,56 a	**	0.0016
Absorción de agua (g)	6,34 b	6,31 b	6,35 b	6,89 a	*	0.0275
Capacidad bufferante acida (Meq)	0,30 b	0,32 b	0,30 b	0,40 a	**	<.0001
Capacidad bufferante básica (Meq)	0,27 b	0,26 b	0,24 c	0,38 a	**	<.0001
Digestibilidad MS Licor cecal (%)	44,51 c	46,08 b	45,38 bc	48,85 a	**	<.0001
Digestibilidad MS Viscozyme (%)	41,48 b	43,95 a	39,43 d	40,2 c	**	<.0001

** Diferencias altamente significativas (P<.005).

Medias con letras iguales no difieren estadísticamente según Duncan (P<0.05).

Elaborado: Janeta, N (2014).

b. Absorción de agua

Los valores más altos para absorción de agua se encontraron a 2900 msnm, con una media de 6,89, el cual fue superior estadísticamente ($P < 0.0001$), respecto a las demás altitudes, es así que a 2800, 2600 y 2700 se registraron medias de 6,34, 6,33 y 6,30 respectivamente y se encuentran en el menor rango de significancia, de acuerdo a Duncan ($P < 0.05$). De los datos obtenidos podemos deducir que la absorción de agua es menor a menor altitud de establecimiento del pastizal.

Al respecto de la Capacidad de absorción de agua (CAA), Dihigo, L. (2007), en su investigación reporta un valor promedio de 6.8 para la morera y de 8.2 para la alfalfa, esta característica pudiera ser favorable para la digestión de la fibra, ya que la humedad facilita la hidrólisis por la enzima celulasa. Esta propiedad de la fibra diluye el contenido cólico y por consiguiente, las heces modifican su característica al incrementar su peso, por mayor contenido en agua, reduciendo así su MS (Roberson y col. 1980, citado por Dihigo, L. 2007).

c. Capacidad bufferante acida

El análisis de varianza, de la capacidad bufferante acida por efecto de la altura registró diferencias significativas ($P > 0.0001$), encontrándose que el promedio más alto fue el de las muestras a 2900 msnm (T4), con un valor promedio de 0,39Meq, y las demás altitudes fueron estadísticamente inferiores con valores de 0,315, 0,303 y 0,301 Meq para T3, T2 y T1 respectivamente, esto debido a un probable mayor contenido de calcio del pasto azul a 2900 msnm y de las gramíneas en general como lo afirma Carulla (2013). El análisis de regresión para esta variable en función de altura se resume en la figura 33, con una línea de tendencia y fórmula que indican una función polinomial cubica.

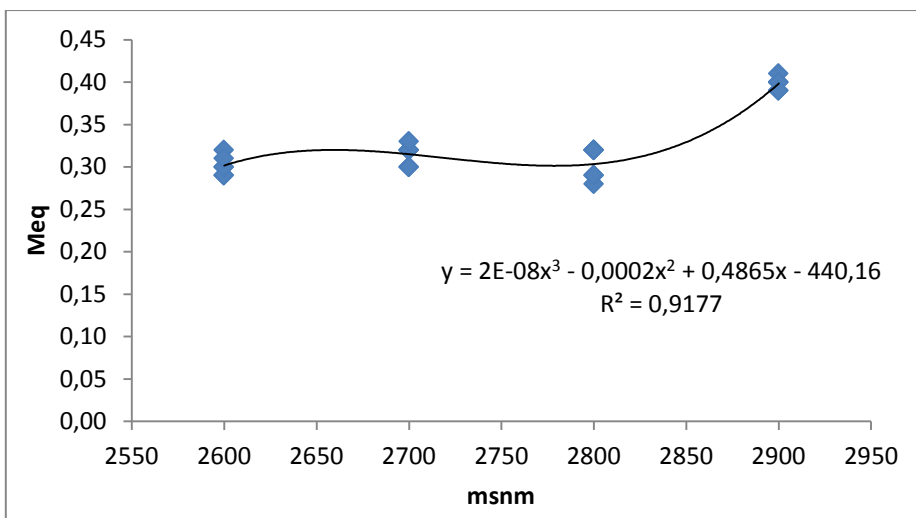


Figura 33. Capacidad bufferante acida de la fibra del Pasto azul

d. Capacidad bufferante básica

El análisis de varianza (ADEVA), de las medias en cuanto se refiere a la capacidad bufferante básica, registraron diferencias significativas ($P < 0.0001$), por efecto de la altura, observándose el valor más alto a 2900 msnm, con una media de 0.375, la cual es estadísticamente superior a las muestras obtenidas a 2600 y 2700 msnm, que compartieron el mismo rango de significancia de acuerdo a Duncan ($P < 0.05$), con medias de 0.267 y 0.264, respectivamente; finalmente el valor estadísticamente inferior se reportó a 2800 msnm con una media de 0.244. El coeficiente de variación registrado para esta medición fue de 4.02, lo que indica que existe confiabilidad en los datos experimentales con mínimas variaciones que se demuestran en los valores de la desviación estándar y el error típico promedio. El análisis de regresión para esta variable en función de altura se resume en la figura 34, con una línea de tendencia y fórmula que indican una función polinomial cubica.

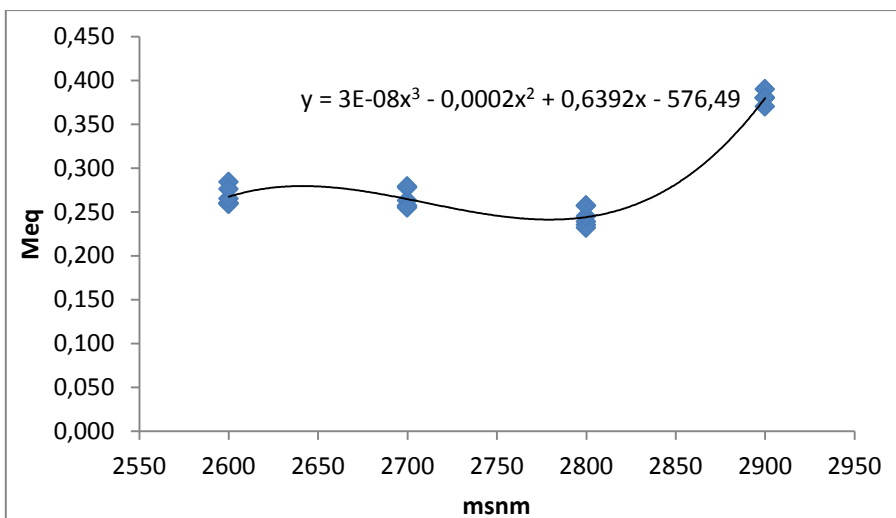


Figura 34. Análisis de regresión de la capacidad bufferante básica del Pasto azul en relación con la altura de establecimiento.

4. Digestibilidad in-vitro

a. Digestibilidad método licor cecal

La digestibilidad de la materia seca del Pasto azul a través del método del licor cecal, registro diferencias altamente significativas ($P < 0,001$), es así que la mayor digestibilidad se presentó en el Pasto azul cultivado a 2900 m con un coeficiente de 48.45, el cual fue superior al Pasto azul de 2700 m (46.08) y 2800 m (45.38); este último a su vez compartió rango de significancia con el pasto azul a 2600 m, que tuvo la menor digestibilidad con un coeficiente de 44.51.

Dihigo, L. (2007), concluyo que el uso del método de digestibilidad in vitro con el inóculo cecal del conejo, para alimentos fibrosos, sobreestimó la digestibilidad de la MS y la proteína bruta en 7.36 y 6.02 unidades porcentuales respectivamente.

El análisis de regresión para esta variable en función de altura se resume en la figura 35, con una línea de tendencia y fórmula que indican una función polinomial cubica.

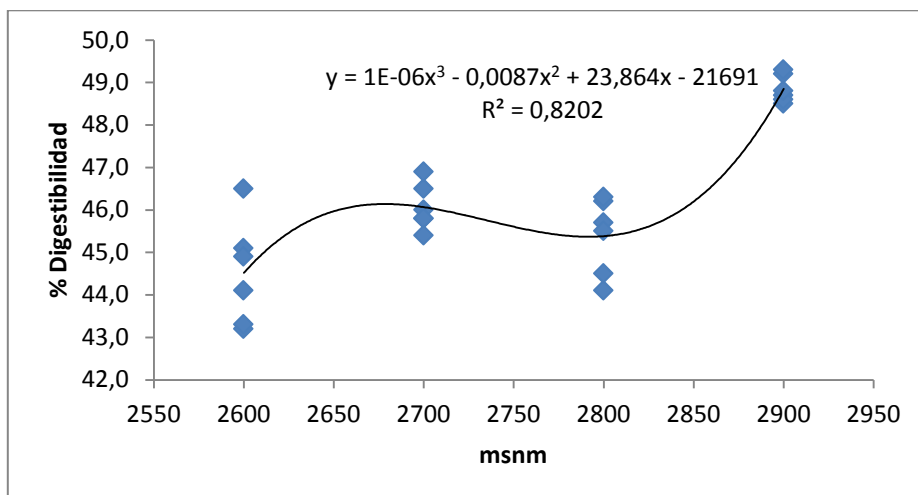


Figura 35 Digestibilidad in vitro del Pasto azul, método del licor cecal

Al comparar las técnicas de digestibilidad in vitro para conejos Pascual, J. (2012), reporta valores de 35.09 % para gramíneas en cuanto a la digestibilidad de la materia seca a través de la técnica del licor cecal, valor que es inferior al reportado en la presente investigación probablemente debido a variaciones en las condiciones medio ambientales. Utilizando otros métodos como el de AIA para estimar la digestibilidad aparente en conejos, Nieves D. (2008) reporta un coeficiente de digestibilidad de 57.84 %.

b. Digestibilidad método Pepsina - pancreatina -Viscozyme

El análisis de varianza de la digestibilidad de la materia seca con el método de Viscozyme por efecto de la altura en el Pasto azul, registró diferencias altamente significativas ($P < 0,001$), encontrándose que el promedio más alto y superior a todos los demás fue a 2700 m (43.95), seguido de 2600 m (41.48), a continuación 2900 m (40.2); finalmente el promedio inferior estadísticamente se reportó a 2800

m, con un valor de 39.43, Pascual, J. (2000) en su comparación entre métodos in vitro para la digestibilidad en conejos indica un promedio de 44.76 % para la digestibilidad de la materia seca en gramíneas a través del método del Viscozyme, valor que es similar a lo obtenido en la presente investigación.

Al respecto de la digestibilidad con métodos convencionales como el de Tilley y Terry, Muñoz, F.(1999), reporta un promedio de 57.65 % a 500 msnm en el Mediterráneo, valor que es superior a lo reportado en la presente investigación, Robalino, N. (2010) menciona un coeficiente de 70.6 en nuestro país a 2600 msnm; Arce C. *et al* (2003), reporta una digestibilidad aparente a través del método enzimático (celulasa) de 74,3; por otra parte Ortega, F. *et al* (2013), reportan promedios de digestibilidad in vitro para el pasto azul de 73.3, 78 y 68.8 %, en distintas zonas de Chile, a 200, 15 y 93 msnm respectivamente; valores que son ampliamente superiores a lo encontrado, esto probablemente debido a la diferencia en los métodos de determinación de la digestibilidad in vitro de la materia seca y al hecho de fueron investigaciones destinadas a estimar la digestibilidad en rumiantes.

El análisis de regresión para esta variable en función de altura se resume en la figura 35, con una línea de tendencia y formula que indican una función polinomial cubica.

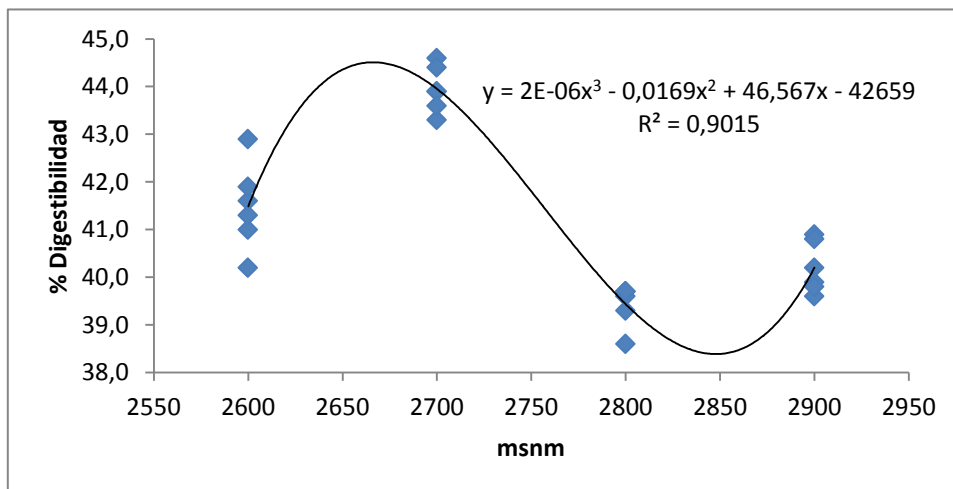


Figura 36. Digestibilidad in vitro del pasto azul, método Viscozyme

VII. CONCLUSIONES

- De acuerdo a los análisis bromatológicos y la composición química el Rye grass cultivado a 2900 m es el más alto en nutrientes con un 11,3 % de proteína verdadera, 39.4 % de extracto libre de nitrógeno y uno de los más bajos contenido de fibra cruda (27.9 %),
- En el pasto azul el tratamiento a 2900 msnm es el más alto en proteína verdadera y extracto libre de nitrógeno (14.05 y 36.7 % respectivamente) y el más bajo en cuanto a fibra cruda con un valor de 29.62 %.
- En cuanto a las propiedades físicas de la fibra del Rye grass, se encontró que cultivado a 2900 m presento valores más altos de solubilidad y capacidad bufferante (29.02, 0.30, 0.31 Meq), mientras que en la variable absorción de agua el tratamiento a 2700 m (7.16 Meq). En cuanto al pasto azul la solubilidad, la capacidad de absorción de agua y la capacidad buffer acida y básica fueron superiores a 2900 m con valores de 25.6 %, 6.9, 0.4 y 0.38 Meq respectivamente.
- Respecto a las paredes celulares el Rye grass a 2900 m, reporta los valores más bajos de FDN, FDA Y LAD (56.2, 34.9 y 6.8 respectivamente) y los más altos en cuanto a proteína, extracto libre de nitrógeno.
- Los resultados del pasto azul para paredes celulares, presentan datos heterogéneos, sin embargo al ser el promedio de Lignina acida detergente menor a 2900 m, y considerando que este parámetro es indicador de digestibilidad, nos indica probablemente mayor digestibilidad del pasto azul a esta altitud.

VIII. RECOMENDACIONES

- El pasto azul y el Rye grass cultivados a 2900 msnm, bajo las condiciones ambientales de nuestro país son más ricos en valor nutritivo, esto debido a la mayor acumulación de reservas a mayor altitud; estas gramíneas y a esta altura son una excelente fuente de alimentación para el cuy y de los herbívoros en general por lo que se recomienda fomentar su utilización, ya sea en fresco, en forma de heno o como parte de una dieta, para realizar pruebas in vivo y determinar parámetros productivos.
- Promover investigaciones referentes a una caracterización más amplia de las propiedades físico químicas de la fracción fibrosa y los factores antinutricionales de los alimentos utilizados dentro del ciclo productivo de animales andinos de interés zootécnico y a la digestibilidad de estos alimentos de acuerdo a la muy peculiar anatomía y procesos fisiológicos en herbívoros monogástricos y rumiantes.
- Determinar la correlación entre los métodos in vitro de digestibilidad de la presente investigación con el método in vivo en el cuy, para verificar cual es el que más se ajusta a la digestibilidad real, sin embargo a priori, se recomienda utilizar el método del licor cecal, ya que la fermentación es similar a la que ocurre en el ciego del cuy y el conejo.
- Realizar la caracterización agrobotánica del Rye grass y el pasto azul cultivado a diferentes alturas, para en base a la producción de forraje y los resultados de esta investigación, evaluar de una manera más completa a estas dos especies forrajeras.

IX. BIBLIOGRAFIA

- Acosta, G., Ayala Torales, A. & Acosta, A. (2006). Comportamiento en pastoreo de ganado lechero sobre una pastura gramínea de *Dactylis glomerata*, pastoreada en distintas edades de rebrote. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- Aguilar, M. (1998). Producción de forraje y carne con pasto estrella (*Cynodon dactylon*) y transvala (*Digitaria decumbens*). Tesis (Ingeniero Agrónomo) Escuela Agrícola Panamericana.
- AOAC. (2002). Official methods of analysis of AOAC International. 17th Edition. The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence. Volumen I y II Cap 4 pp 1- 38
- Aparicio, M., Vargas, J., & Prieto, L. (2005). Consideraciones sobre bienestar animal. VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos, Libro de Memorias. Unellez, Guanare, 1-9.
- Arce, C., Torres G. Arbaiza T., Carcelén F. & Lucas, O. (2003). Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.
- Basantes, A. (1991). Principales forrajes para la alimentación de ganado bovino, Nariño- Colombia, edit Méndez, pp. 312-327
- Barrera V, León - Velarde C, Grijalva J & Chamorro F. (2004). Manejo del sistema de producción "papa-leche" en la sierra ecuatoriana: alternativas tecnológicas. INIAP.

- Bernal, J, (2005). Manual de manejo de pastos cultivados para zonas altoandinas. Ministerio de agricultura de Colombia. Dirección de crianzas.
- Caballero, A. (1992). Valor nutricional de la panca de maíz: consumo voluntario y digestibilidad en el cuy (*Cavia porcellus*). UNA La Molina, Lima, Perú.
- Carabaño, R. & Fraga, J. (1992). The use of local feeds for rabbits. Options Méditerranéennes. Série séminaires. No. 17:141.
- Carvajal, J., & Vivas, N. (2008). Evaluación del reemplazo parcial del forraje *Axonopus* sp por *Saccharina rustica* en la alimentación del cuy (*Cavia porcellus*). Nota técnica. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 42(3), 275-277.
- Cardona, M. (2001). Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia.
- Carulla J, Cárdenas E, Sánchez N & Riveros C. (2013). Valor nutricional de los forrajes más usados en los sistemas de producción lechera especializada de la zona andina colombiana. Departamento de Producción Animal, Laboratorio de Nutrición Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia.
- Cedeño, D. Ceballos, A. Garzón, C & Daza, C. (2011). Estudio Comparativo de Perfiles Metabólicos Minerales en Lecherías de dos Regiones de Nariño.
- Chauca, F.L. (1997). Producción de cuyes (*Cavia porcellus*) en los países andinos. *Revista Mundial de Zootecnia* 83(2):9-19.

- Colombatto, D. (2002). Análisis de alimentos: Aplicaciones prácticas. Departamento de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- De Blas Beorlegui, C., Mateos, G. G., & Rebollar, P. G. (2003). Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.
- De Blas, J. C. Y J. Wiseman. (1998). The Nutrition of the Rabbit. CABI Publishing. Wallingford, UK. P 352.
- Dihigo, L. (2007). Caracterización físico-química de productos tropicales y su impacto en la morfofisiología digestiva del conejo. Universidad agraria de La Habana. Instituto de Ciencia Animal. Departamento de Ciencias Biofisiológicas.
- FAO, (2002) Departamento de agricultura, Producción de cuyes, Cap 4, Nutrición y alimentación.
- Fernández & Carmona. (1993). Un Nuevo método in vitro para el estudio de la digestión en el conejo. XVII Simposio de cunicultura.
- García B, Criado B. & J. M. Gómez Gutiérrez. (2003). Evolución de la producción, digestibilidad y proteína bruta durante el crecimiento primario de ocho especies forrajeras. Centro de edafología y biología aplicada (C.S.I.C). Salamanca.
- Gidenne, T. (1997). Measure of rate of passage in restricted fed rabbits: Effect of dietary cell wall level on the transit of fiber particles of different sizes. Anim. Feed. Sci. Technol. 42:151.

- Goering, H. K., & Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). USDA Agr Handb.
- Gómez, B.C. & Vergara, V. (1993). Fundamentos de nutrición y alimentación. I Curso nacional de capacitación en crianzas familiares, págs. 38-50, INIA-EELM-EEBI.
- González, J., Hernández, A., Garaya & Martínez, P. (2012). Rendimiento y calidad de forraje del pasto ovillo (*Dactylis glomerata*) al variar la frecuencia e intensidad de pastoreo. Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Groot, Jeroen C. J., *et al.* (2003). Analysis of the temperature effect on the components of plant digestibility in two populations of perennial ryegrass. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 83, no 4.
- Gualli, M. (2012). “Evaluación de diferentes niveles de fertilizante foliar completo (abonagro – polvo) en la producción de forraje y semilla de *Dactylis glomerata* en la hacienda Sillaguan”. EIZ. ESPOCH
- Harris, E. (2001). Compilación de datos analíticos y biológicos en la preparación de cuadros de composición de alimentos para uso en los trópicos de América Latina. Centro para la Agricultura Hemisferio Sur. Montevideo. Uruguay.
- Jung, H. Mertens, R & Payne, A. (1997). Correlation of Acid Detergent Lignin and Klason Lignin with Digestibility of Forage Dry Matter and Neutral Detergent Fiber. *J. Dairy Sci.* 80: 1622-1628.

- Lebas, F. (2004). Reflections on rabbit nutrition with a special emphasis on feed ingredients utilization. 8th World Rabbit Congress. México.
- Leyva L, Arbaiza T. & San Martín F. (2001). Prueba de digestibilidad in vitro con diferentes proporciones de saliva artificial y flora microbiana en alpacas. Universidad de san Marcos, Perú.
- Lindner, R. (1994). Evaluación del genero *dactylis (poaceae)* del noroeste de la península ibérica. Misión Biológica de Galicia C.S.I.C. Pontevedra. España.
- Lopez R., J.C.; Riaño H., N.M. & Lopez F., (1999). Efecto de la altitud sobre el comportamiento fotosintético de la hoja del cafeto /*Coffea arabica*.
- Mc Donald, P. (1995). Animal Nutrition. 5° Ed. New York USA. Edit Longman Scientific Technical.
- Meir, H. (1991). Métodos modernos de Análisis. *Tomos I, II, III Editorial Acribia, Zaragoza.*
- Muñoz, F. (1999). Chemical composition and in vitro digestibility of herbaceous autochthonous plants in a semi-arid region of Spain. Servicio de Investigación Agroalimentaria (SIA- DGA) Apdo 727,50080 Zaragoza, Spain.
- Nieves, D. (2008). Digestibilidad fecal de nutrientes en dietas con forrajes tropicales en conejos. Comparación entre métodos directo e indirecto. Universidad Ezequiel Zamora. Guanare 3323, Venezuela.

- Ochoa, S. P., Cerón, J. M., Hamedt, J. F., Arenas, J., & Álvarez, A. (2014). Evaluación del establecimiento de ryegrass (*Lolium* sp.) en potreros de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) usando la metodología de cero labranza. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 8(1), 26-35.
- Ortega F., Torres B., Moscoso J. & Santana R., (2013). Gramíneas forrajeras perennes para el sur de Chile evaluación de cultivares 2010-13. INIA. U. Rec. Forestales. Osorno, Chile.
- Pascual J, Cerevera C, Fernandez & Carmona. (2000). Comparicon of diffenrent In Vitro Digestibility Methods for nutritive evaluation of rabbit diets. Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de valencia,
- Petit, V. Lafreniere, C & Veira, D. (1990). A Comparision of Methods to Determine Dry Matter in Silages. University of Manitoba, Winnipeg, MB, Canada
- Ramos, M. A., Carabaño, R. (1992). An in vitro method for estimating digestibility in rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research*, 15, 938-938.
- Reíd, M.E. & Mickelsen, O. (1963). Nutritional studies with the guinea pig: VIII. Efect of different proteins, with and without amino acid supplements, on growth. *J. of Nutrition* 80:25-32.
- Ribeiro, J. Y Moreira, O. (2000). Comments on feed evaluation methods used in the Project Estaqaó Zootécnica Nacional, Instituto Nacional de Investigaqaó Agraria (INIA), Vale de Santarém, Portugal.

- Rico, N.E. (1993). *Situación de la investigación del Programa de cuyes en Bolivia*. IV Curso latinoamericano de producción de cuyes, Riobamba, Ecuador.
- Robalino N, (2010). “Influencia de la fertilización y el intervalo de pastoreo en el contenido de FDN y energía de una mezcla forrajera”. Escuela Politécnica del Ejército. Departamento de Ciencias de la Vida Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias. Sangolqui – Ecuador
- Sánchez, A. (2009). Valoración nutritiva y respuesta productiva de las pancas de maíz y arroz en ovinos tropicales mestizos estabulados, en el cantón Quevedo. Tesis de grado presentada previa la obtención del grado académico de Magister en Producción Animal. Quevedo. Ecuador. p. UTEQ. p. 17.
- Saucedo, F. (2002). Determinación de la digestibilidad de la asociación Rye grass (*Lolium multiflorum*), trébol blanco (*Trifolium repens*) en cuyes (*Cavia porcellus*). Universidad Nacional Técnica De Cajamarca.
- Savon, L (2002). Alimentos altos en fibra para especies monogástricas. Caracterización de la matriz fibrosa y sus efectos en la fisiología digestiva Revista Cubana de Ciencia Agrícola, vol. 36, núm. 2, 2002, pp. 91-102 Instituto de Ciencia Animal.
- Tello, P. (2012). Tipos de pastos de acuerdo al piso climático. Universidad Estatal De Bolívar. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Torres G. Arbaiza T., Carcelén F. & Lucas, O. (2009). Comparación de las técnicas in situ, in vitro y enzimática (celulasa) para estimar la

digestibilidad de forrajes en ovinos. Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

- Van Soest, P. J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant. Second Ed. Cornell University Press Ithaca, N.Y.
- Velasco M., Hernández A. & González V. (2007). Cambios en Componentes del rendimiento de una pradera de Ballico perenne, en respuesta a la frecuencia de corte. Revista Fitotecnia Mexicana. Vol. 30 N. 001. Sociedad mexicana de Fitotecnia, A.C. Chapingo, México. p.7987.
- Velásquez, P (2009). Evaluación morfoagronómica y nutricional de cinco variedades de Rye grass bianual (*lolium multiflorum*) en lugares representativos de las zonas de producción de leche de las provincias de Carchi, Imbabura y Pichincha. Proyecto previo a la obtención del título de ingeniero agroindustrial. Escuela Politécnica Nacional.
- Vélez, M., Hincapie, J., Matamoros I & Santillan R. (2002). Producción de ganado lechero en el trópico, cuarta edición. Zamorano academic Press. Honduras.
- Villa-Méndez C, (2010). Valuación de la digestibilidad de diferentes tipos de forrajes de dos regiones del estado de Michoacán. Universidad Michoacana De San Nicolás De Hidalgo, México.
- Villalobos, R. Retana, J. (1999). Evaluación del impacto del cambio climático sobre la producción agrícola de Costa Rica. Ministerio de Ambiente y Energía, instituto meteorológico nacional, The Institute for Environmental Studies, Vrije University, Amsterdam. San José, Costa Rica.

X. ANEXOS

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 63

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	4	2600 2700 2800 2900

Number of Observations Read	24
Number of Observations Used	24

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 64

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: PROT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	8.43948333	2.81316111	12.70	<.0001
Error	20	4.42890000	0.22144500		
Corrected Total	23	12.86838333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PROT Mean
0.655831	3.864864	0.470579	12.17583

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	8.43948333	2.81316111	12.70	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 65

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: PV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	4.40943333	1.46981111	12.80	<.0001
Error	20	2.29590000	0.11479500		
Corrected Total	23	6.70533333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PV Mean
0.657601	3.146393	0.338814	10.76833

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	4.40943333	1.46981111	12.80	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 66

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CEN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	7.59643333	2.53214444	12.60	<.0001
Error	20	4.01916667	0.20095833		
Corrected Total	23	11.61560000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CEN Mean
0.653985	3.869519	0.448284	11.58500

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	7.59643333	2.53214444	12.60	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 67

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: FC

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	26.17810000	8.72603333	13.38	<.0001
Error	20	13.04423333	0.65221167		
Corrected Total	23	39.22233333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	FC Mean
0.667428	2.829865	0.807596	28.53833

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	26.17810000	8.72603333	13.38	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 68

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: EE

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.88568333	0.29522778	47.50	<.0001
Error	20	0.12430000	0.00621500		
Corrected Total	23	1.00998333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	EE Mean
0.876929	3.426379	0.078835	2.300833

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	0.88568333	0.29522778	47.50	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 69

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: ELN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	20.94498333	6.98166111	7.39	0.0016
Error	20	18.88920000	0.94446000		
Corrected Total	23	39.83418333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ELN Mean
0.525804	2.470606	0.971833	39.33583

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	20.94498333	6.98166111	7.39	0.0016

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 70

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: FDN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	53.33771250	17.77923750	30.07	<.0001
Error	20	11.82585000	0.59129250		
Corrected Total	23	65.16356250			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	FDN Mean
0.818521	1.313247	0.768955	58.55375

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	53.33771250	17.77923750	30.07	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 71

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: FDA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	34.33888333	11.44629444	11.42	0.0001
Error	20	20.04836667	1.00241833		
Corrected Total	23	54.38725000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	FDA Mean
----------	-----------	----------	----------

0.631377 2.745105 1.001208 36.47250

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	34.33888333	11.44629444	11.42	0.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 72

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: LAD

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	12.21671250	4.07223750	102.65	<.0001
Error	20	0.79345000	0.03967250		
Corrected Total	23	13.01016250			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LAD Mean
0.939013	2.742104	0.199180	7.263750

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	12.21671250	4.07223750	102.65	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 73

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: SOLUB

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	41.84730000	13.94910000	10.95	0.0002
Error	20	25.48063333	1.27403167		
Corrected Total	23	67.32793333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	SOLUB Mean
0.621544	4.068718	1.128730	27.74167

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	41.84730000	13.94910000	10.95	0.0002

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 74

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: ADSAGUA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	2.95581667	0.98527222	6.39	0.0033
Error	20	3.08596667	0.15429833		

Corrected Total	23	6.04178333		
	R-Square	Coeff Var	Root MSE	ADSAGUA Mean
	0.489229	5.934407	0.392808	6.619167

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	2.95581667	0.98527222	6.39	0.0033

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 75

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CBAC

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.00043333	0.00014444	0.61	0.6187
Error	20	0.00476667	0.00023833		
Corrected Total	23	0.00520000			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CBAC Mean
	0.083333	5.061655	0.015438	0.305000

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	0.00043333	0.00014444	0.61	0.6187

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 76

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CBBAS

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.01068313	0.00356104	16.05	<.0001
Error	20	0.00443650	0.00022183		
Corrected Total	23	0.01511963			

	R-Square	Coeff Var	Root MSE	CBBAS Mean
	0.706573	5.649612	0.014894	0.263625

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	0.01068313	0.00356104	16.05	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 77

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: LCECAL

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	38.37184583	12.79061528	38.59	<.0001
Error	20	6.62941667	0.33147083		
Corrected Total	23	45.00126250			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LCECAL Mean
0.852684	0.915919	0.575735	62.85875

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	38.37184583	12.79061528	38.59	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 78

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: VISCOZYME

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	231.6633333	77.2211111	197.75	<.0001
Error	20	7.8100000	0.3905000		
Corrected Total	23	239.4733333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	VISCOZYME Mean
0.967387	1.136526	0.624900	54.98333

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	231.6633333	77.2211111	197.75	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 79

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for PROT

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.221445

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.5667	.5949	.6128

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	13.0917	6	2900

B	12.1500	6	2600
B			
B	12.0233	6	2700
C	11.4383	6	2800

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 80

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for PV

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.114795

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.4080	.4283	.4412

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	11.3417	6	2600
A			
A	10.9933	6	2900
B	10.5050	6	2800
B			
B	10.2333	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 81

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for CEN

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.200958

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.5399	.5667	.5837

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	12.3400	6	2900
B	11.7150	6	2600
B			
B	11.5217	6	2700
C	10.7633	6	2800

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 82

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for FC

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.652212

Number of Means	2	3	4
Critical Range	0.973	1.021	1.052

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	30.1133	6	2700
B	28.7650	6	2800
B			
C B	27.9600	6	2900
C			
C	27.3150	6	2600

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 83

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for EE

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.006215

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.0949	.0997	.1027

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	2.50333	6	2800
A			
A	2.43333	6	2600
B	2.26167	6	2900
C	2.00500	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 84

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for ELN

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.94446

Number of Means	2	3	4
Critical Range	1.170	1.229	1.265

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	40.5600	6	2800
A			
A	39.4933	6	2600
A			
A	39.3567	6	2900
B	37.9333	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 85

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for FDN

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.591292

Number of Means	2	3	4
Critical Range	0.926	0.972	1.001

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	60.2367	6	2700
B	59.2450	6	2600
B			
B	58.5417	6	2800
C	56.1917	6	2900

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 86

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for FDA

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	1.002418

Number of Means	2	3	4
-----------------	---	---	---

Critical Range	1.206	1.266	1.304
----------------	-------	-------	-------

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	38.0550	6	2800
A			
A	37.0967	6	2700
B	35.8133	6	2600
B			
B	34.9250	6	2900

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 87

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for LAD

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.039672

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.2399	.2518	.2594

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	8.4950	6	2800
B	6.9500	6	2600
B			
B	6.8250	6	2900
B			
B	6.7850	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 88

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for SOLUB

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	1.274032

Number of Means	2	3	4
Critical Range	1.359	1.427	1.470

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
-----------------	------	---	------

A	29.0217	6	2900
A			
A	28.5267	6	2800
A			
A	27.8467	6	2600
B	25.5717	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 89

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for ADSAGUA

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha		0.05
Error Degrees of Freedom		20
Error Mean Square		0.154298

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.4731	.4966	.5115

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	7.1550	6	2700
A			
B A	6.7033	6	2800
B			
B	6.3650	6	2900
B			
B	6.2533	6	2600

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 90

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for CBAC

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha		0.05
Error Degrees of Freedom		20
Error Mean Square		0.000238

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.01859	.01952	.02010

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	0.310000	6	2900
A			
A	0.306667	6	2800
A			
A	0.305000	6	2700
A			

A 0.298333 6 2600

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 91

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for CBBAS

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.000222

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.01794	.01883	.01939

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	0.298333	6	2900
B	0.261500	6	2800
B	0.251833	6	2600
B	0.242833	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 92

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for LCECAL

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.331471

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.6934	.7278	.7497

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	64.1667	6	2900
A	63.8683	6	2800
B	62.4000	6	2700
C	61.0000	6	2600

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 93

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for VISCOZYME

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.3905

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.7526	.7900	.8137

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	58.7833	6	2900
B	56.9000	6	2600
C	53.5667	6	2800
D	50.6833	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 32

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	4	2600 2700 2800 2900

Number of Observations Read	24
Number of Observations Used	24

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 33

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: PROT

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	41.15148333	13.71716111	35.07	<.0001
Error	20	7.82190000	0.39109500		
Corrected Total	23	48.97338333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PROT Mean
0.840283	3.957032	0.625376	15.80417

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	41.15148333	13.71716111	35.07	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 34

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: PV

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	10.95285000	3.65095000	19.70	<.0001
Error	20	3.70593333	0.18529667		
Corrected Total	23	14.65878333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	PV Mean
0.747187	3.228256	0.430461	13.33417

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	10.95285000	3.65095000	19.70	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 35

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CEN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.85881667	0.28627222	1.14	0.3552
Error	20	5.00043333	0.25002167		
Corrected Total	23	5.85925000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CEN Mean
0.146575	4.051219	0.500022	12.34250

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	0.85881667	0.28627222	1.14	0.3552

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 36

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: FC

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	79.13715000	26.37905000	39.56	<.0001
Error	20	13.33703333	0.66685167		
Corrected Total	23	92.47418333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	FC Mean
0.855776	2.725288	0.816610	29.96417

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	79.13715000	26.37905000	39.56	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 37

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: EE

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	2.17667917	0.72555972	18.42	<.0001
Error	20	0.78761667	0.03938083		
Corrected Total	23	2.96429583			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	EE Mean
0.734299	6.400625	0.198446	3.100417

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	2.17667917	0.72555972	18.42	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 38

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: ELN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	51.07114583	17.02371528	16.27	<.0001
Error	20	20.93125000	1.04656250		
Corrected Total	23	72.00239583			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ELN Mean
0.709298	2.980998	1.023016	34.31792

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	51.07114583	17.02371528	16.27	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 39

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: FDN

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	37.02284583	12.34094861	41.98	<.0001
Error	20	5.87985000	0.29399250		
Corrected Total	23	42.90269583			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	FDN Mean
0.862949	0.849023	0.542211	63.86292

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	37.02284583	12.34094861	41.98	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 40

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: FDA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	17.37991250	5.79330417	12.38	<.0001
Error	20	9.35825000	0.46791250		
Corrected Total	23	26.73816250			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	FDA Mean
0.650004	1.726777	0.684041	39.61375

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	17.37991250	5.79330417	12.38	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 41
The ANOVA Procedure

Dependent Variable: LAD

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	18.35948333	6.11982778	176.14	<.0001
Error	20	0.69490000	0.03474500		
Corrected Total	23	19.05438333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LAD Mean
0.963531	2.014229	0.186400	9.254167

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	18.35948333	6.11982778	176.14	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 42
The ANOVA Procedure

Dependent Variable: SOLUB

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	20.11661250	6.70553750	7.37	0.0016
Error	20	18.19008333	0.90950417		
Corrected Total	23	38.30669583			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	SOLUB Mean
0.525146	3.918224	0.953679	24.33958

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	20.11661250	6.70553750	7.37	0.0016

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 43
The ANOVA Procedure

Dependent Variable: ADSAGUA

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
--------	----	----------------	-------------	---------	--------

Model	3	1.41065217	0.47021739	3.75	0.0275
Error	20	2.50661167	0.12533058		
Corrected Total	23	3.91726383			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ADSAGUA Mean
0.360112	5.470104	0.354021	6.471917

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	1.41065217	0.47021739	3.75	0.0275

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 44

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CBAC

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.03844583	0.01281528	74.29	<.0001
Error	20	0.00345000	0.00017250		
Corrected Total	23	0.04189583			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CBAC Mean
0.917653	3.985009	0.013134	0.329583

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	0.03844583	0.01281528	74.29	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 45

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: CBBAS

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	0.06277046	0.02092349	155.71	<.0001
Error	20	0.00268750	0.00013437		
Corrected Total	23	0.06545796			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	CBBAS Mean
0.958943	4.027922	0.011592	0.287792

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	0.06277046	0.02092349	155.71	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 46

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: LCECAL

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	63.21833333	21.07277778	30.41	<.0001
Error	20	13.86000000	0.69300000		
Corrected Total	23	77.07833333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	LCECAL Mean
0.820183	1.801550	0.832466	46.20833

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	63.21833333	21.07277778	30.41	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 47

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: VISCOZYME

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	70.47666667	23.49222222	61.05	<.0001
Error	20	7.69666667	0.38483333		
Corrected Total	23	78.17333333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	VISCOZYME Mean
0.901544	1.503270	0.620349	41.26667

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	3	70.47666667	23.49222222	61.05	<.0001

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 48

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for PROT

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.391095

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.7532	.7906	.8143

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	17.8050	6	2900
B	15.7067	6	2700
B	15.5717	6	2600
C	14.1333	6	2800

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 49

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for PV

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.185297

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.5184	.5442	.5605

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	14.0500	6	2900
A			
B A	13.6000	6	2700
B			
B	13.4600	6	2800
C	12.2267	6	2600

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 50

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for CEN

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.250022

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.6022	.6321	.6511

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	12.5533	6	2600
A			
A	12.5067	6	2900
A			
A	12.1817	6	2700

A
A 12.1283 6 2800

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 51

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for FC

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 20
Error Mean Square 0.666852

Number of Means	2	3	4
Critical Range	0.983	1.032	1.063

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	31.7067	6	2600
B	30.7017	6	2700
B	30.5317	6	2800
C	26.9167	6	2900

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 52

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for EE

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 20
Error Mean Square 0.039381

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.2390	.2509	.2584

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	3.6200	6	2600
B	2.9633	6	2700
B	2.9300	6	2800
B	2.8883	6	2900

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 53

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for ELN

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	1.046563

Number of Means	2	3	4
Critical Range	1.232	1.293	1.332

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	36.6983	6	2900
B	34.3000	6	2800
B			
C B	33.3017	6	2600
C			
C	32.9717	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 54

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for FDN

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.293993

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.6530	.6854	.7060

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	65.0383	6	2800
A			
B A	64.5317	6	2900
B			
B	64.0900	6	2700
C	61.7917	6	2600

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 55

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for FDA

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20

Error Mean Square 0.467913

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.8238	.8647	.8907

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	40.4600	6	2600
A			
A	40.0117	6	2800
A			
A	39.7817	6	2900
B	38.2017	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 56

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for LAD

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.034745

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.2245	.2356	.2427

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	10.0183	6	2800
A			
A	9.9367	6	2600
B	9.2250	6	2700
C	7.8367	6	2900

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 57

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for SOLUB

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.909504

Number of Means	2	3	4
Critical Range	1.149	1.206	1.242

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	25.5550	6	2900
A			
B A	24.8133	6	2800
B			
B C	23.8300	6	2600
C			
C	23.1600	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 58

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for ADSAGUA

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.125331

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.4264	.4475	.4610

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	6.8910	6	2900
B	6.3490	6	2800
B			
B	6.3398	6	2600
B			
B	6.3078	6	2700

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 59

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for CBAC

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.000173

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.01582	.01660	.01710

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	0.398333	6	2900

B	0.315000	6	2700
B			
B	0.303333	6	2800
B			
B	0.301667	6	2600

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 60

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for CBBAS

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha		0.05
Error Degrees of Freedom		20
Error Mean Square		0.000134

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.01396	.01465	.01509

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	0.375000	6	2900
B	0.267333	6	2600
B			
B	0.264667	6	2700
C	0.244167	6	2800

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 61

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for LCECAL

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha		0.05
Error Degrees of Freedom		20
Error Mean Square		0.693

Number of Means	2	3	4
Critical Range	1.003	1.052	1.084

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	48.8500	6	2900
B	46.0833	6	2700
B			
C B	45.3833	6	2800
C			
C	44.5167	6	2600

The SAS System 22:45 Wednesday, February 19, 2015 62

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for VISCOZYME

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	20
Error Mean Square	0.384833

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.7471	.7842	.8078

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	trat
A	43.9500	6	2700
B	41.4833	6	2600
C	40.2000	6	2900
D	39.4333	6	2800



