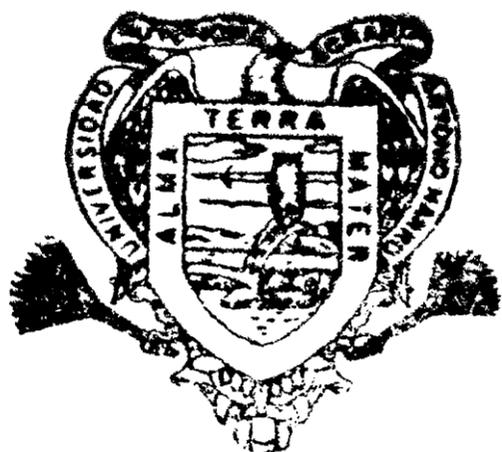


ESTIMACION DE LA DIGESTIBILIDAD in vitro
DE CINCO FORRAJES Y UN ALIMENTO
MEDIANTE LA TECNICA DE READING

JOSE TRINIDAD VILLEGAS GONZALEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PRODUCCION ANIMAL



Universidad Autónoma Agraria

Antonio Narro

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista. Saltillo. Coah.

JUNIO DE 1997

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
EN PRODUCCION ANIMAL.

COMITE PARTICULAR

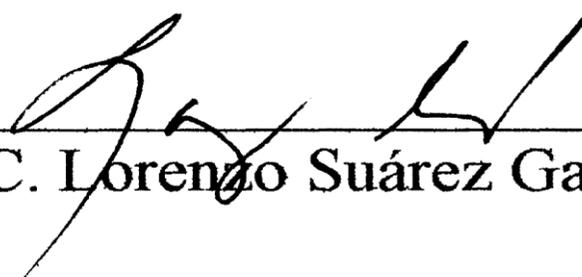
Asesor principal:

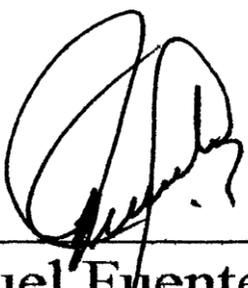

Dr. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez.

Asesor:


Dr. Benjamín Ortiz de la Rosa.

Asesor:


M.C. Lorenzo Suárez García.


Dr. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez
Subdirector de Postgrado.

Buenavista, Saltillo, Coahuila., Junio 1997.

DEDICATORIA

A MI ESPOSA: María A. Becerra Salceda por apoyarme moralmente durante todo el tiempo transcurrido para llegar a concretar mi trabajo de tesis.

A MIS HIJOS: René, Nallely y Jairo que son la razón y motivo para superarme en mi vida.

A MI MADRE: Bernarda González Favila porque sus bendiciones siempre me las dice de todo corazón y le agradezco infinitamente por todo lo que me ha dado.

A MI PADRE: Manuel Villegas Esparza porque a pesar de que no fue a la escuela me supo guiar siempre por el bien, me apoyó moralmente y económicamente. Padre siempre te lo agradeceré.

AGRADECIMIENTOS.

A MI DIOS: Primeramente por concederme llegar a obtener mis metas que siempre he trazado en mi vida.

AL DR. JESUS M. FUENTES RODRIGUEZ: Le agradezco sinceramente todas las facilidades que me brindó para la realización de mi trabajo de tesis. Lo considero como una persona de muy alto criterio y espero seguir contando con su amistad.

AL DR. BENJAMIN ORTIZ DE LA ROSA: Sinceramente le agradezco mucho por apoyarme y guiarme en el trabajo, ya que gracias a usted de una forma desinteresada y decidida me ayudó a lograr ésto que tanto tiempo anhelé. Siempre seré su amigo.

AL MC. LORENZO SUAREZ GARCIA: Por participar en la asesoría de mi trabajo y por haberme demostrado una amistad desinteresada. Cuento con un amigo más.

AL M.V.Z. JOSE IGNACIO ULLOA FLORES: Director del Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 47 de Villa León Guzmán, Dgo. por darme todas las facilidades para la realización de mi trabajo. Médico, siempre le agradeceré.

AL ING. DANIEL ARREDONDO AMADOR: Paisa reconozco tu capacidad por haberme ayudado a realizar parte de mi trabajo y ten la seguridad que cuentas con un compañero y un amigo sincero.

A LICHA: Le agradezco su paciencia y su capacidad por ayudarme a escribir y a hacer todos los arreglos de mi trabajo. Siempre te lo agradeceré.

COMPENDIO.

Estimación de la digestibilidad *in vitro* de cinco forrajes y un alimento mediante la técnica de Reading.

POR
JOSE TRINIDAD VILLEGAS GONZALEZ

MAESTRIA
PRODUCCION ANIMAL
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO.
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JUNIO 1997.

Dr. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez. Asesor.

Palabras Claves: Digestibilidad, *in vitro*, materia seca, materia orgánica, materia orgánica digerida, técnica tradicional, técnica de Reading, alfalfa, paja de sorgo, rastrojo de maíz, paja de frijol, paja de avena, ración.

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila; a 7 km al sur de Saltillo sobre la carretera a Zacatecas. Las coordenadas geográficas son 25° 22' latitud norte y 101° 01' longitud oeste, con una altura de 1742 msnm; la temperatura media anual es de 19.8 °C y una precipitación media anual de 298.5 ml. El clima es Bwhw (x') (e) según Mendoza (1983).

Los objetivos del presente trabajo fueron: determinar la digestibilidad *in vitro* de cinco forrajes y un concentrado mediante la técnica de Reading y comparar la digestibilidad *in vitro* de la alfalfa con la técnica tradicional (Tilley y Terry, 1963) y la técnica de Reading (Universidad de Reading, Inglaterra, 1992).

Para el trabajo se utilizaron dos novillos fistulados ruminalmente con una edad promedio de tres años y un peso de 313 kilos, fueron alimentados según la NRC (1989) con alfalfa y paja de avena así como vitaminas y minerales. La alimentación se proporcionó por la mañana y por la tarde (8:00 y 18:00 hr) y agua limpia ad libitum (cuadro 3.1).

El trabajo está basado en la técnica de Tilley y Terry (1963), pero con una serie de modificaciones realizadas por el Departamento de Agricultura de la Universidad de Reading en Inglaterra (1992).

En la primera fase de fermentación se recolectó el líquido ruminal (inóculo) para ambas técnicas y luego se llevó al laboratorio para empezar a realizar las mezclas de las muestras a incubar. Los muestreos se hicieron durante cuatro semanas (lunes 8:00 am), se pesó un gramo de muestra (forraje) para cada tubo a la cual se le agregó 640 ml de líquido ruminal previamente filtrado, 520 ml de solución buffer y 2080 ml de agua destilada para incubar un total de 60 muestras (cuadro 3.6).

Las muestras fueron puestas en una estufa a 38 °C (técnica modificada) y baño María (técnica tradicional) a igual temperatura y fueron incubadas a 48 hrs.

En la segunda fase de digestión, se le inyectó a cada muestra 1.5 ml de una solución preparada de pepsina y HCl al 38 por ciento en las dos técnicas. Se dejaron

nuevamente descansar los tubos y se les inyectó 3.5 ml de la solución de pepsina/HCl; en seguida se dejan incubar por 48 hrs como segunda y última fase.

Los datos primero fueron capturados en una hoja electrónica (Quatro Pro, 1993) y después se analizaron utilizando un modelo de análisis de varianza y análisis de regresión por medio del paquete estadístico (SAS 1985).

Los parámetros que se evaluaron fueron la digestibilidad *in vitro* de la materia seca, materia orgánica y materia orgánica digerida para paja de sorgo, rastrojo de maíz, alfalfa, paja de frijol, paja de avena y ración. Además se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca, materia orgánica y materia orgánica digerida de la alfalfa con la técnica tradicional y la técnica de Reading.

Los resultados de la digestibilidad *in vitro* con cinco forrajes y la ración con la técnica de Reading, indicaron que no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$). Los valores de la digestibilidad *in vitro* de materia seca para paja de sorgo fue de 50.21 por ciento, 50.67 por ciento para materia orgánica y 45.03 por ciento para la digestibilidad de la materia orgánica digerida. En el rastrojo de maíz la digestibilidad *in vitro* para materia seca fue de 54.63 por ciento, 54.06 por ciento para materia orgánica y 49.42 por ciento de la digestibilidad de la materia orgánica digerida.

En la alfalfa la digestibilidad *in vitro* para materia seca fue de 76.83 por ciento, 76.53 por ciento para materia orgánica y 65.52 por ciento de digestibilidad de la materia orgánica digerida. Para paja de frijol fue de 42.19 por ciento en la materia seca, 40.62 por ciento en materia orgánica y 38.94 por ciento en la digestibilidad de la materia orgánica digerida. En la paja de avena 52.73 por ciento para materia seca, 52.73 por ciento para materia orgánica y 53.36 por ciento para la digestibilidad de la materia orgánica digerida.

digerida. En la paja de avena 52.73 por ciento para materia seca, 52.73 por ciento para materia orgánica y 53.36 por ciento para la digestibilidad de la materia orgánica digerida. Para la ración 61.46 por ciento para materia seca. 62.02 por ciento para materia orgánica y 57.78 por ciento para la digestibilidad de la materia orgánica digerida.

Los resultados de la digestibilidad *in vitro* de la alfalfa con la técnica tradicional fueron, para materia seca 65.6, 67.4, 66.2, y 64.1 por ciento; de 65.3, 64.3, 63.5, y 61.3 por ciento para materia orgánica y la digestibilidad de la materia orgánica digerida de 58.4, 58.0, 56.8 y 54.7 por ciento. Con la técnica de Reading, la digestibilidad *in vitro* de la alfalfa para materia seca fué 69.8, 70.0, 69.7 y 69.9 por ciento; De 70.3, 67.1, 66.8 y 66.9 por ciento para materia orgánica y la digestibilidad de la materia orgánica digerida de 62.8, 59.9, 59.6 y 59.7 por ciento.

La conclusión de esta investigación es que los datos de la digestibilidad *in vitro* de los cinco forrajes y la ración, fueron muy uniformes con la técnica de Reading. Los cambios que se hicieron a la técnica, favorecieron a obtener resultados más confiables que los obtenidos con la técnica tradicional, por lo que se recomienda utilizar la técnica de Reading.

ABSTRACT

Estimation *in vitro* digestibility of five forages and food
through of Reading Technique

POR
JOSE TRINIDAD VILLEGAS GONZALEZ

MAESTRIA
PRODUCCION ANIMAL
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JUNIO 1997.

Dr. Jesús Manuel Fuentes Rodríguez. Advisor.

Keys Words: *in vitro* digestibility of dry matter, organic matter, digestible organic matter, traditional technique, Reading technique, alfalfa, sorghum straw, corn stubble, bean straw, oats straw, ration.

This study was carried out in the installations of the University Autónoma Agraria Antonio Narro, located at Buenavista, Saltillo, Coahuila; 7 km South of Saltillo on the road to Zacatecas.

The Geographical Coordenates are 25° 22' North Lattitude and 101° 01' West

Longitude with an Altitude of 1742 msnm; the annual medium temperature is 19.8°C and annual medium precipitation of 298.5 mm. The climate is Bwhw(x') (e) according to Mendoza (1983).

The objectives of this research were :to determine *in vitro* digestibility of five forages and a concentrated through the Reading technique and to compare the *in vitro* digestibility of alfalfa with a traditional technique (Tilley y Terry, 1963) and the Reading technique.

Two young ruminally fistuled bulls were used, with mean age three years old and mean weigth of 313 kg and were feeding according the NRC(Nutritional, Requeriments Council, 1989) with alfalfa and oats straw , vitamins and minerals were added. The food was supplied in the morning and afternoon(8:00 and 18:00 hr) and clear water ad libitum (cuadro 3.1).

The work was based in the technique of Tilley and Terry (1963), with modifications by the Departament of Agriculture of the University of Reading in England (1992).

In the first phase of fermentation ruminant liquid was collected(inoculation) for both techniques.

one gr of sample (alfalfa) was incorporated to 640 ml of ruminal liquid previously filtered, 520 ml of buffer solution and 2080 ml of destiled water to incubate sixty samples total .

The samples was setting in a stove at 38° C and bath to equal temperature and were incubated for 48 hr for both techniques.

In the second phase of digestion it was injected to each sample 1.5 ml of a prepared solution of pepsin and hidrochloric acid at 38 per cent in the two techniques. They were rested again the pipes and they were injected 3.5 ml of the solution of pepsin hidrochloric/acid inmediately, and they, were set to incubate for 48 hr as a second phase.

The data were captured in Quatro Pro (1993) and they were analysed utilizing a model of variation analysis and regression analysis through the statistical package SAS,(1985).

The parameters evaluated were the *in vitro* digestibility of dry matter, organic matter and digestible organic matter for sorghum straw, corn stubble, alfalfa, bean straw oats straw and a ration through the Reading technique. The results of the *in vitro* digestibility, indicated no significan differences ($P>0.05$) the values of dry matter were sorghum straw was 50.21 por ciento, 50.67 por ciento for organic matter and 45.03 por ciento for digestibility of the digestible organic matter . Results for corn stubble for dry

ciento for digestibility of the digestible organic matter . Results for corn stubble for dry matter was 54.63 por ciento, 54.06 por ciento for organic matter and 49.42 por ciento digestibility organic matter digestible. The results with alfalfa dry matter was 76.83 por ciento, 76.53 por ciento for organic matter and 65.62 por ciento digestibility organic matter digestible. For bean straw was 42.19 por ciento, in dry matter, 40.62 por ciento in organic matter and 38.94 por ciento digestibility organic matter digestible. The oats straw 52.73 por ciento for dry matter, 52.73 por ciento for organic matter and 53.36 por ciento for digestibility organic matter digestible. For ration 61.46 por ciento for dry matter, 62.02 por ciento for organic matter and 57.78 por ciento for digestibility organic matter digestible.

The results *in vitro* digestibility of alfalfa with the traditional technique were, for dry matter 65.6, 67.4, 66.2 and 64.1 por ciento. For organic matter 65.3, 64.3, 63.5 and 61.3 por ciento. For digestibility organic matter digestible 58.4, 58.0, 56.8 and 54.7 por ciento. With the Reading technique, *in vitro* digestibility of dry matter of alfalfa was 69.8, 70.0, 69.7 and 69.9 por ciento. For organic matter 70.3, 67.1, 66.8 and 66.9 por ciento. For organic matter 70.3, 67.1, 66.8 and 66.9 por ciento. For digestibility organic matter digestible 62.8, 59.9, 59.6 and 59.7 por ciento.

The conclusion of this research is that the data of the *in vitro* digestibility of five forages and a ration, were very uniform with the Reading technique. The changes that were made to the technique favours to get better results than the traditional technique, so it is recommend to utilize the Reading technique.

INDICE DE CONTENIDO

	pagina
INDICE DE CUADROS.....	iii
INDICE DE FIGURAS.....	iv
INTRODUCCION.....	1
REVISION DE LITERATURA.....	3
Digestibilidad in vitro de la materia seca(DIVMS).....	4
Obtención del Inóculo.....	10
Estandarización de la Técnica de Digestibilidad in vitro	11
Comparación de Resultados de Digestibilidad invitro Utilizando la técnica de Tilley y Terry	12
Energía Digestible	15
Energía Metabolizable.....	15
Energía para Mantenimiento y Producción.....	16
MATERIALES Y METODOS.....	20
Localización del Area de Estudio.....	20
Animales y Manejo.....	20
Digestibilidad <i>in vitro</i>	21
Material y Equipo Utilizado en la Técnica de Reading y en la Técnica Tradicional.....	21
Obtencion del Inoculo o Líquido Ruminal con la técnica Modificada y con la Técnica Tradicional.....	23
Procesamiento para los análisis en el Laboratorio Utilizando las dos Técnicas (Tradicional y de Reading).....	24
Preparación de la Muestra.....	24
Blancos y Estandares Utilizados en la Digestibilidad.....	25
Preparación de soluciones e Inoculación de las muestras de Alfalfa para la Digestibilidad.....	25
Segunda Etapa HCl mas pepsina.....	28
Filtrado de las muestras de digestibilidad.....	28
Análisis estadístico.....	29
Digestibilidad in vitro de cinco forrajes y alimento mediante la técnica de Reading	29
Predicción de la energía metabolizable de forrajes y alimento partiendo de la digestibilidad in vitro de Reading.....	31

RESULTADOS Y DISCUSION..... 33

CONCLUSIONES..... 53

RESUMEN..... 55

LITERATURA CITADA..... 59

INDICE DE FIGURAS.

NÚMERO	PAGINA.
FIG.5.1 MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> DE LA ALFALFA CON LA TÉCNICA TRADICIONAL.....	37
FIG.5.2 MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> DE LA ALFALFA CON LA TÉCNICA DE READING.....	38
FIG.5.3 ENERGIA METABOLIZABLE DE LA ALFALFA, OBTENIDA CON LAS TECNICAS TRADICIONAL Y DE READING.....	39
FIG.5.4 TEMPERATURA DEL LIQUIDO RUMINAL EXTRAÍDO POR EL MÉTODO TRADICIONAL.....	41
FIG.5.5 TEMPERATURA DEL LIQUIDO RUMINAL EXTRAÍDO POR EL MÉTODO DE READING.....	42
FIG.5.6.1 MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> UTILIZANDO LA TÉCNICA DE READING PARA PAJA DE SORGO.....	46
FIG.5.6.2 MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> UTILIZANDO LA TÉCNICA DE READING PARA RASTROJO DE MAÍZ.....	47
FIG.5.6.3 MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> UTILIZANDO LA TÉCNICA DE READING PARA LA ALFALFA.....	48
FIG.5.6.4 MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> UTILIZANDO LA TÉCNICA DE READING PARA LA PAJA DE FRIJOL.....	49
FIG.5.6.5 MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> UTILIZANDO LA TÉCNICA DE READING PARA LA PAJA DE AVENA.....	50
FIG.5.6.6 MEDIAS DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> UTILIZANDO LA TECNICA DE READING PARA LA RACION.....	51
FIG.5.7 ENERGIA METABOLIZABLE DE CINCO FORRAJES Y UN ALIMENTO CONCENTRADO CON LA TECNICA DE READING.....	52

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA.
3.1 RACIÓN UTILIZADA EN LA ALIMENTACIÓN DE NOVILLOS UTILIZADOS PARA LA EXTRACCIÓN DE LIQUIDO RUMINAL EN LA COMPARACIÓN DE LA TECNICA DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i>	21
3.2 REACTIVOS UTILIZADOS EN LA TÉCNICA DE READING.....	22
3.3 MEZCLA DE CLORUROS UTILIZADOS EN LA TÉCNICA DE READING.....	23
3.4 REACTIVOS UTILIZADOS PARA LA ELABORACIÓN DE LA PEPSINA ACIDA SEGUN EL TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	23
3.5 CANTIDADES DE REACTIVOS UTILIZADOS PARA LA ELABORACIÓN DE LA SALIVA ARTIFICIAL EN LA TECNICA TRADICIONAL Y LA DE READING DE DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i>	26
3.6 SOLUCIÓN DIGESTIVA UTILIZADA EN LA TÉCNICA DE READING.....	27
5.1 DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> DE LA MATERIA SECA, MATERIA ORGÁNICA Y MATERIA ORGANICA DIGERIDA DE LA ALFALFA CON LA TÉCNICA TRADICIONAL.....	35
5.2 DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> DE LA MATERIA SECA, MATERIA ORGÁNICA Y MATERIA ORGÁNICA DE LA ALFALFA CON LA TECNICA DE READING.....	36
5.3 TEMPERATURAS DEL LÍQUIDO RUMINAL EXTRAÍDO POR EL METODO TRADICIONAL.....	40
5.4 TEMPERATURAS DEL LÍQUIDO RUMINAL EXTRAÍDO POR EL METODO DE READING.....	40
5.5 DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> Y ENERGIA METABOLIZABLE DE FORRAJES Y ALIMENTO UTILIZANDO LA TÉCNICA DE READING.....	45
5.6 COEFICIENTES DE VARIACION DE FORRAJES Y DE ALIMENTO CONCENTRADO DE LA DIGESTIBILIDAD <i>in vitro</i> DE MATERIA SECA, MATERIA ORGANICA Y DOMD CON LA TÉCNICA DE READING.....	45

INTRODUCCION

En base a que existe gran interés por parte de los especialistas en Producción Animal en la determinación de la digestibilidad *in vitro* tanto para forrajes como para concentrados, se ha conducido un experimento (cinco forrajes y un concentrado) en dos fases de digestibilidad (fermentación y digestión) con una técnica modificada propuesta por el Departamento de Agricultura de la Universidad de Reading en Inglaterra(1992) en donde además se llevó a cabo la digestibilidad in vitro de la alfalfa con la técnica de Tilley y Terry (1963) y la técnica de Reading (1992).

La técnica de Reading puede representar una buena opción por sus resultados más homogéneos y precisos, por lo cual puede ser difundida en centros de investigación así como en Universidades del país que se dedican a realizar investigación en forrajes y concentrados. Es muy importante que la técnica recomendada sea debidamente estandarizada con alimentos comunes según la zona en que se encuentra cada laboratorio, especialmente si se pretende predecir el valor nutritivo de los alimentos. Debido a que existe mayor confiabilidad en los resultados de las pruebas de digestibilidad, usando la técnica de Reading para el análisis de forrajes y concentrados en rumiantes, los objetivos del presente trabajo son:

a) Determinar la digestibilidad *in vitro* en cinco forrajes y un alimento mediante la técnica modificada de la Universidad de Reading Inglaterra(1992).

b) Comparar la digestibilidad *in vitro* de alfalfa mediante la técnica tradicional (Tilley y Terry 1963) y la técnica desarrollada por la Universidad de Reading Inglaterra (1992) .

REVISION DE LITERATURA

El uso de técnicas de laboratorio para determinar la digestibilidad de los forrajes se ha empleado como una alternativa al método de determinación de digestibilidad utilizando animales. Desafortunadamente esta técnica de digestibilidad *in vivo* cuenta con la desventaja de que se requiere mucha infraestructura y tiempo para llevarla a cabo. Estas determinaciones generalmente dan un valor ligeramente más alto que la técnica de digestibilidad *in vitro* y ecuaciones correctivas son requeridas para relacionar un valor con el otro(Mc Donald *et al.*, 1988).

Existen varios pasos para realizar la digestibilidad *in vitro* como *in situ*, aunque todos se basan principalmente en dos fases, algunos modifican temperatura, concentración de saliva, agitación y recolección de líquido ruminal.

Cowlshaw y Unsworth (1976) mencionan que las técnicas de digestibilidad *in vitro* son difíciles de uniformar dentro y entre laboratorios, por lo que se puede mencionar que aunque la metodología sea igual, cada laboratorio utiliza su propia técnica. Esto hace que la repetibilidad para muestras de un mismo pasto sea alta entre laboratorios.

La técnica *in vitro* se ha clasificado como una de las técnicas mas problemática que la de *in situ*, ya que en esta última no se requiere gasto en equipo de laboratorio y favorecen a estudiar especies que poseen compuestos anticualitativos que inhiben la fermentación *in vitro* y que llevan a subestimar la digestibilidad (Pezo, 1988).

Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS).

El sistema de digestibilidad *in vitro* se basa en su primera etapa en una fermentación en un sistema cerrado, es decir, los productos de la fermentación no son removidos. La fermentación es producida por microorganismos presentados en el líquido ruminal utilizado como inóculo. Sin embargo, la fermentación en estas condiciones no refleja de ninguna forma lo que realmente sucede en el rumen, ya que éste es un sistema abierto con condiciones muy especiales; por lo tanto, es incorrecto el término "rumen artificial" para describir esta técnica.

En esta primera etapa se adiciona una solución amortiguadora con el fin de mantener un PH alrededor de 6.9 considerando estas condiciones(6.7 a7.0) como óptimas para que actúen las bacterias ruminales, especialmente las celulolíticas(Moore, *et al*; 1962; Johnson, 1969). En la segunda etapa de esta técnica se lleva a cabo una digestión con pepsina en medio ácido, añadiendo

HCL. El principal objetivo de esta etapa es eliminar la proteína microbiana existente dejando únicamente la materia seca no digerida. Esta etapa es comparativa con lo que sucede en el abomaso.

Es importante señalar que la DIVMS no considera la digestión intestinal y también en este método no se toma en cuenta la excreción endógena producida en el animal.

En alimentos de muy alta calidad (ejemplo concentrados) el requerimiento metabólico tiende a ser el factor limitante; este nivel es definido como el set point; en cambio en la mayoría de los forrajes ese punto no se alcanza ya que los factores que controlan el consumo son relacionados con la calidad del alimento; por lo anterior se puede decir que el mecanismo de control en dietas en base a forrajes es principalmente indirecto (distensión del retículo-rumen), cuando la digestibilidad de los forrajes disminuye con la maduración de las plantas, el animal en pastoreo no puede compensar esta falta de nutrientes comiendo más debido a que el material en el Tracto Gastrointestinal (TGI) no se mueve lo suficientemente rápido (NRC, 1987; Vallentine, 1990; Van Soest, 1982). La relación entre la digestibilidad y el consumo voluntario puede ser positiva o negativa dependiendo del rango de digestibilidad. El punto de máximo consumo de materia seca se encontró con un valor de digestibilidad aparente del 67 por ciento al alimentar vacas lecheras con combinaciones de

alfalfa-concentrado. Se dice que el efecto de la digestibilidad sobre el consumo es positivo en dietas con valores menores a 67 por ciento (66 por ciento de acuerdo a Vallentine, 1990) y que sobre este valor de digestibilidad el efecto es negativo, lo que limita el consumo en el primer caso es la distensión y en el segundo caso es quimiostático (Freer, 1981; Van Soest, 1982).

Normalmente se asume que la digestibilidad y el consumo de forrajes están directamente relacionados; sin embargo estas características son algo independientes. La independencia del consumo se puede demostrar examinando la relación entre el contenido de lignina y el consumo la que es cero en una población grande de diferentes forrajes. Las leguminosas normalmente contienen más lignina que las gramíneas pero también tienen un mayor consumo. Se ha observado en un grupo como orchard, bromo y sudán en el que el consumo está negativamente relacionado con el contenido de lignina y en forma positiva con digestibilidad. Un grupo inesperado está integrado por festuca, bluegrass y probablemente red canary grass; este grupo presenta una tendencia positiva entre el consumo y su contenido de lignina (su contenido promedio de lignina es bajo). Tanto festuca como canary grass contienen alcaloides que inhiben su digestión en el rumen o alteran el balance fisiológico del animal; estos alcaloides declinan con la edad lo que provoca que el animal rechace el alto consumo de estas especies en estado tierno. En promedio resulta una relación positiva entre el consumo y el contenido de

lignina del forraje provocado por el bajo nivel de lignina de festuca y su bajo consumo y el alto contenido de lignina de la alfalfa y su alto consumo. La totalidad del material estructural del forraje(pared celular) es la fracción que muestra relaciones más consistentes con el consumo (Van Soest, 1982).

La tasa de digestión ruminal *in vitro* apoya la conclusión de que el contenido de pared celular es el principal factor que restringe el consumo; la máxima correlación de digestibilidad *in vitro* y consumo es a las 6 hr de digestión y a este tiempo de digestión, la mayor parte del contenido celular ha desaparecido y muy poca pared celular se ha fermentado.

Al realizar una comparación entre el por ciento de pared celular en 56 tipos de forrajes y su consumo por ovinos; es clara la relación negativa entre estas variables, la mayor variabilidad en el consumo a bajos contenidos de pared celular que a altos contenidos se puede explicar ya que un forraje de alta calidad puede provocar un mayor rango de diferencias en consumo y con un forraje de baja calidad las diferencias son menores porque el contenido de pared celular restringe el consumo vía distensión a un nivel de consumo muy bajo. Mertens (citado por Van Soest, 1982). La hipótesis de que el consumo de pared celular de los forrajes es lo que limita la capacidad ruminal, se demostró al observar que el consumo de pared celular fue casi constante sobre un amplio rango en el contenido de pared celular de los forrajes utilizados.

Van Soest (1982) reporta reducciones en la digestibilidad de la materia seca de forrajes desde 1.4 hasta 6.4 unidades por cada unidad de mantenimiento consumida. Dentro de los forrajes, las leguminosas tienen menores depresiones en su digestibilidad que las gramíneas. La curva acumulativa de digestión, indica que las paredes celulares más susceptibles a una mayor depresión en su digestibilidad son aquellas que tienen una sustancial digestibilidad entre 30-48 hr de fermentación. Sin embargo en la práctica, el alimento no permanece en el rumen por un tiempo indefinido y algunas partículas solo parcialmente digeridas saldrán del rumen. Por lo anterior, se debe considerar la tasa de paso para estimar la degradabilidad efectiva. La tasa de paso se puede estimar con el uso de marcadores indigestibles. La tasa constante de paso K que se refiere a la cantidad de alimento que sale del rumen por unidad de tiempo, se puede utilizar en la ecuación:

$$\text{Degradabilidad efectiva} = a + (b \cdot c) / (c + k)$$

Este parámetro también se define como coeficiente de digestibilidad (coeficiente de digestibilidad aparente) y se refiere a la proporción del alimento que es extraída por el animal. Por ejemplo la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) es:

DMO= (Materia Orgánica consumida- Materia Orgánica en heces) / Materia Organica consumida y puede ser expresada como proporción o porcentaje.

La digestibilidad de la Materia Orgánica es un mejor estimador del valor nutritivo que la materia seca ya que elimina posibles contaminaciones con el suelo y está más correlacionado con la disponibilidad de energía. Pero debido a que los consumos normalmente están dados en términos de materia seca por día, un parámetro más útil para el cálculo de Materia Orgánica Digerida consumida es la Materia Organica Digerida en la Materia Seca denominado DOMD o valor-D.

$$\text{Valor-D} = [(\text{MO consumida} - \text{MO en heces}) / (\text{MS consumida})] * 100$$

Las fracciones MS, MO y la subdivisión en componentes digestibles (D) e indigestibles (1). Como la digestibilidad tiende a disminuir con el avance de la madurez y del contenido de pared celular, el valor-D se puede predecir con algún conocimiento del estado de crecimiento. La declinación típica del valor-D con la madurez del primer crecimiento de la estación es de tres a cinco unidades por semana. La tasa de reducción es de solo 1.5 a dos unidades por semana en los siguientes rebrotes.

Orchard grass se caracteriza por un menor valor-D inicial que otras especies, mientras que Rye grass anual y Timothy muestran menores tasas de reducción que Festuca, Orchard y Rye grass perenne. El valor-D de trébol blanco declina lentamente a una tasa de 0.8 por semana, mientras que el trébol rojo, Sainfoin y alfalfa declinan a 2.5, 2.5 y 2.8 unidades por semana respectivamente.

Considerando esta situación, se recomienda que esta técnica sea utilizada para predecir el valor nutritivo de alimentos vegetales especialmente forrajes, así como para estudiar factores que afectan la digestibilidad de los mismos; sin embargo, no debe utilizarse para evaluar factores que presenten una fuerte interacción con lo sucedido *in vivo*.

El método recomendado hasta la fecha está basado en la técnica de Tilley y Terry, (1963), con modificaciones por Minson y McLeod (1972), Alexander y McGowan (1966) y Cowlshaw y Unsworth (1976).

Obtención del Inoculo.

El líquido ruminal deberá obtenerse de dos novillos o borregos fistulados, tratando de tomar partes iguales de ambos. Estos animales deberán estar en una dieta con 100 por ciento de alfalfa henificada de buena calidad más sal mineralizada a libertad.

La alfalfa se considera el alimento más adecuado ya que es un forraje perenne y se puede disponer de él en todo el año, sin embargo puede mezclarse con un 50 por ciento de un zacate o forraje fibroso si se desea. Deberá evitarse el uso de grandes cantidades de concentrado o ensilajes en estas raciones, ya que el conteo de bacterias celulolíticas podría bajar(Shimada ,1990).

Estandarización de la Técnica de Digestibilidad *in vitro*.

Se han hecho varias recomendaciones para estandarizar esta técnica, individualmente entre más a fondo se lleve a cabo más confiables serán los resultados.

Si se obtiene la digestibilidad *in vivo* de este producto por colección total de heces, podrá obtenerse una digestibilidad *in vivo* estimada corrigiendo los resultados *in vitro* con la diferencia promedio entre la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* del forraje de referencia. Este proceso puede hacerse extensivo a un mayor número de forrajes de diferente tipo y en base a estos resultados obtener una regresión de la digestibilidad *in vitro* e *in vivo*.

Tilley y Terry (1963), obtuvieron la siguiente ecuación: $Y=0.99 X -1.01$, con un error estándar de 2.3, donde Y= digestibilidad *in vivo* y X= digestibilidad *in vitro*.

En condiciones ideales el coeficiente de regresión (b) debería ser igual a 1 y la intercepción (a) igual a 0. La intercepción negativa (-1.0) esta indicando una sobre estimación de la digestibilidad *in vitro* con respecto a la *in vivo*.

Esta sobre estimación puede ser mayor o menor, dependiendo de las condiciones de cada laboratorio y del tipo de forraje que estén analizando, de ahí la necesidad de estandarizar.

Si la información acumulada en un laboratorio llega a ser suficiente, se pueden obtener ecuaciones para diferentes grupos de forrajes, por ejemplo, leguminosas, gramíneas esquilmos, etc., lo cual contribuirá a disminuir el error estándar de regresión.

Comparación de Resultados de Digestibilidad *in vitro* Utilizando la Técnica de Tilley y Terry.

Euzárraga (1988) menciona que al comparar la técnica de Tilley y Terry (1963) y la modificación de Barnes (1969) encontraron que los coeficientes de digestibilidad de la materia seca para el método de Tilley y Terry fue de 68.7 por ciento, y 78.2 por ciento para la técnica de Barnes. Los resultados de este trabajo de digestibilidad de ambas técnicas están en los promedios de aceptación, sin embargo, los valores mínimos y máximos de las repeticiones de los tratamientos (Tilley y Terry, 57.5 a 84.3, Barnes, 73.0 a 84.3) están muy separados de la media, lo que indica que faltó precisión en la aplicación de las técnicas.

Los coeficientes antes mencionados son más altos a los encontrados por Alvarado y Riquelme (1979), al evaluar maíz-alfalfa a diferentes niveles al ser ensilados y encontraron que la digestibilidad *in vitro* de la materia seca disminuyó al aumentar la proporción de alfalfa en la masa ensilada,

encontrando los valores menores (61.8 por ciento) al realizar digestibilidades *in vitro* de heno de alfalfa. En la digestibilidad de materia orgánica, se encontraron coeficientes de digestibilidad en un rango de 55.1 a 84.1 por ciento cuando se aplicó el método de Tilley y Terry, y rangos de coeficientes de digestibilidad de materia orgánica de 72.2 por ciento a 93.5 por ciento al aplicar la técnica modificada por Barnes. El promedio de digestibilidad de la materia orgánica para cada tratamiento fue de 68.7 y 78.2 por ciento respectivamente.

Dhanoa y Deriaz (1984) utilizaron la técnica de Tilley y Terry (1963) y consideraron que este método ha ganado aceptación, con algunas variables que son usadas en todo el mundo como procedimiento estándar para determinar la digestibilidad de forrajes frescos y conservados a niveles específicos. El uso de HgCl_2 al final de la primera etapa ha sido discontinuado desde 1972. También se encontró que la adición de cinco miligramos de urea $\text{N}+5\text{mg } (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \text{ N}$ a la mezcla ruminal y solución buffer provee suficiente nitrógeno sin afectar el pH de siete.

Zubal (1978) menciona que al realizar un ensayo metodológico en la técnica de Tilley y Terry concluyó que el número de repeticiones puede ser reducido a tres o cuatro, sin pérdida de exactitud. En la segunda fase de la digestión (pepsina HCl) puede ser reducida de 48 a 24 horas. La reducción en la longitud de la primera fase y el almacenamiento del líquido ruminal por más

de dos horas causó una disminución significativa en los valores obtenidos de digestibilidad. El peso del inóculo de materia seca no tuvo efectos en los resultados. Dhanoa y Deriaz (1984) consideró que el líquido ruminal debe ser extraído de un animal que tenga mínimo 18 horas de ayuno. Además consideran necesario en esta técnica agregar N, ya que probablemente Tilley y Terry utilizaron en sus investigaciones heno con suficiente nitrógeno, pero henos con bajo contenido de N como alimento donador no parece ser conveniente. La partición de los alimentos en proteína cruda, fibra cruda, extracto etéreo y nitrógeno no facilita la interpretación de su valor nutritivo. En la búsqueda de una mejor caracterización química de los forrajes se considero más conveniente, dividir la materia seca en contenido celular y pared celular, y sobre esta base, Van Soest y P.J. (1982) establecieron la técnica de la fibra neutro detergente (FND). En esta fragmentación, la pared celular está compuesta de sustancias pépticas, polisacáridos estructurales, hemicelulosa, celulosa y lignina. Con el avance de la madurez de las plantas, se incrementan las concentraciones de hemicelulosa, celulosa y lignina, pero la lignina es la que tiene mayor influencia negativa sobre la tasa de digestibilidad del forraje. Al comparar leguminosas con gramíneas al mismo estado fenológico, las primeras contienen más lignina y sustancias pépticas pero menos pared celular y hemicelulosa. Dentro de los componentes del contenido celular se encuentran las proteínas, peptidos, ac. nucleicos, lípidos, azúcares y almidones.

Energía Digestible.

La ED de gramíneas y leguminosas de clima temprano puede ser calculada a partir de valores de DMS (digestibilidad de la Materia Seca):

$$ED \text{ (MJ/kg de MS)} = 19.66 * DMS;$$

Esta ecuación no considera diferencias en el contenido de energía causado por variaciones en el contenido de cenizas del forraje y como se ha señalado esta fuente de error se puede eliminar expresando los resultados como DOMO o valor-D, y es útil para calcular el Total de Nutrientes Digestibles (TND), Energía Digestible (DE) y Energía Metabolizable (EM) (MJ/kg de MS), Gramíneas y leguminosas de clima templado:

$$NDT = 1.018 * DOMD - 0.27 ; r=0.99$$

$$DE = 0.234 * DOMD - 2.34 ; r=0.97$$

$$EM = 0.16 * DOMD ; \text{(Minson, 1990).}$$

Energía Metabolizable (EM).

No toda la energía digestible es disponible para los tejidos del animal, ya que parte de ella se pierde como metano producido durante la fermentación microbiana. El término energía metabolizable (EM) es de uso común en el Reino Unido para describir el contenido de energía en los

alimentos, y se refiere a la energía digestible menos las pérdidas conjuntas en metano y orina son próximas al 19 por ciento de la energía digestible, por lo tanto:

$$EM = 0.81 * ED$$

A partir de datos de DMD, Minson y McDonald (1987) lograron calcular la EM:

$$EM \text{ (MJ/kg MS)} = 0.1604 * DMD - 1.037 ; R^2 = 0.985$$

Energía para Mantenimiento y Producción.

El NRC (1984) plantea que la energía Metabolizable (EM) utilizada se puede expresar como Energía Neta (EN) y la subdivide en Energía Neta de Mantenimiento (Enm) y Energía Neta de Ganancia (Eng) con las siguientes ecuaciones para su estimación:

$$ENm \text{ (Mcal/kg MS)} = (1.37 * EM) - (0.138 * EM^2) + (0.0105 * EM^3) - 1.12$$

$$ENg \text{ (Mcal/kg MS)} = (1.42 * EM) - (0.174 * EM^2) + (0.0122 * EM^3) - 1.65$$

Se ha demostrado que el uso de ionóforos (monensin) disminuye la proporción de ácido acético y aumenta la de propiónico y mejora el incremento de peso en bovinos en pastoreo de praderas de clima templado en 0.1 kg/día.

La suplementación con granos al ganado en praderas mejora principalmente, la eficiencia de utilización de la energía para ganancias (kf) desde 0.3 sin suplemento hasta 0.6 cuando el grano (maíz) representó el 100 por ciento de la dieta (Minson, 1990).

La predicción de la producción animal requiere de estimaciones de consumo voluntario y valor nutritivo del forraje. Los parámetros más utilizados para definir el valor energético y protéico de un alimento son: Valor-D, EM, PC, y degradabilidad de la proteína.

Como las especies forrajeras tienen un patrón característico en la reducción del valor-D con la madurez de la planta en el Reino Unido se dispone de cartas para conocer este valor. Minson (1990) menciona que dichas estimaciones del valor-D en Inglaterra se basan en factores meteorológicos que afectan el crecimiento del forraje. Para la predicción de la digestibilidad de la materia seca (DMD) se han desarrollado ecuaciones que utilizan como variable independiente la proporción de hoja:

$DMD = 0.408 + 0.4X$; $r=0.95$ (Reid et al. , 1959) y otras que utilizan la edad de rebrote del forraje.

Dentro de los métodos que se apoyan en análisis químicos, el método más común para motivos de asesoría, es determinar el contenido de Fibra

Acido Detergente Modificada (MADF), ya que se han desarrollado ecuaciones para estimar la Materia Orgánica Digestible en la Materia Seca (DOMD o valor-D) y la EM.

La fibra Cruda y la Fibra Neutro Detergente tienen la desventaja sobre la Fibra Acido Detergente de que sus relaciones con la digestibilidad de la materia orgánica (DOM) de gramíneas y leguminosas son diferentes. La MADF a diferencia de la ADF tiene un mayor tiempo de hidrólisis en uno a dos horas y con esto se reduce la desviación residual estándar (RCD) de la estimación (Minson, 1990).

En relación a las diferencias en la predicción del consumo por las diferentes ecuaciones y especies forrajeras, la presentada pro (NRC, 1987) produce mayores diferencias como efecto de las concentraciones de ENm, le siguen es este criterio NRC (1984) . La ecuación invierte el nivel de consumo en relación a la concentración de energía; por ejemplo, predice un mayor consumo para avena aun y cuando es la especie con menor energía. Esta ecuación utiliza Energía metabolizable en su segundo término el cual es negativo. Probablemente sea más adecuada para raciones de alta energía donde un control quimiostático se pueda presentar. La ecuacione de Preston (1972) la cuale no considera la concentración de energía del forraje producen

estimaciones intermedias (para las especies evaluadas) a las de ecuaciones

que si consideran este parámetro.

MATERIALES Y METODOS.

Localización del Area de Estudio.

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila; a 7 Km al sur de Saltillo sobre la carretera a Zacatecas. Las coordenadas geográficas son 25 ° 22' Latitud Norte y 101 ° 01' Longitud Oeste, con una altura de 1742 msnm.; la Temperatura Media anual es de 19.8 °C y una precipitación media anual de 298.5 mm El clima es Bwhw (x') (e) según Mendoza (1983).

Animales y Manejo

En el desarrollo del presente trabajo se utilizaron dos novillos fistulados ruminalmente , con una edad promedio de tres años y un peso promedio de 313 kg. Las cánulas ruminales eran de un diámetro de 10.16 cm, los animales fueron alojados en forma individual. Los novillos fueron alimentados según la NRC (1987) con una dieta en base a alfalfa y paja de avena así como de

vitaminas y minerales, la alimentación se proporcionó por la mañana y por la tarde (8:00 y 18:00 hrs) y agua limpia ad libitum (cuadro 3.1.).

Cuadro3.1. Ración Utilizada en la Alimentación de Novillos utilizados para la Extracción de Líquido Ruminal en la Comparación de la tecnica de Digestibilidad *in vitro*.

Ingredientes	Cantidades (Kg)
Paja de avena	36.5
Heno de Alfalfa	15.8
Sorgo	46.5
Urea	.8
Sulfato de Amonio	.08
Mezcla de Minerales	.4
TOTAL	100.08

Digestibilidad *in vitro*.

El presente trabajo está basado en la rutina de laboratorio de Tilley y Terry (1963), y además se ha introducido una serie de modificaciones realizadas por el Departamento de Agricultura de la Universidad de Reading en Inglaterra (1992).

Material y Equipo Utilizado en la Técnica de Reading y en la Técnica Tradicional.

En la técnica modificada se utilizaron tubos Nalgene (Nalgene Brand Products. Company) con capacidad de 100 ml. equipados con tapón de hule y

aguja (Vacutaner) para la salida de gas, esta fue una modificación ya que en la técnica tradicional se utilizan tubos de 50 ml.

Se utilizó inyector semiautomático de “media” con la finalidad de que fuera más rápida y más exacta la inoculación, en la técnica tradicional se utilizan despachadores de volumen lo cual hace más tardada la inoculación.

Se utilizó estufa calibrada a una temperatura constante de 38 °C para la incubación de las dos etapas, para la de Reading y la tradicional se utilizó baño María.

Se utilizaron filtros Alundum de 80 X 25 mm. sustituyendo el papel filtro ya que en este tipo de material se pierde muestra.

Cuadro 3.2. Reactivos Utilizados en la Técnica de Reading.

REACTIVO	1 Lto.	2 Lto.
Ortofosfato disódico anhídrido	18.5 g	37.0 g
Bicarbonato de sodio	40.0 g	98.0 g
Mezcla de cloruros	100 ml	200 ml

Cuadro 3.3. Mezcla de Cloruros Utilizados en la Técnica de Reading.

REACTIVO	CANTIDAD (g)
Cloruro de Sodio (NaCl)	47.0 g
Cloruro de potasio (KCl)	57.0 g
Cloruro de magnesio hexahidratado ($MgCl_2 \cdot 6 H_2 O$)	57.0 g
Cloruro de calcio ($CaCl_2$)	4.0 g

Cuadro 3.4. Reactivos Utilizados para la Elaboración de la Pepsina ácida según el Tamaño de la muestra.

No. de Tubos	Pesos de Pepsina/vol Hcl 28% (gr/m
20	2.4 / 100
40	4.8 / 100
50	6.0 / 250
60	7.2 / 300
70	8.4 / 350
100	12.0 / 500

Obtención del Inóculo o Líquido Ruminal con la Técnica de Reading y con la Técnica Tradicional.

Para la recolección del líquido ruminal para la estandarización de la técnica *in vitro* se utilizó la metodología tradicional, así como la metodología de Reading existiendo variación ya que en la de Reading se utilizó bomba para

la extracción del líquido de todo el rumen, el líquido fue llevado en un termo, se midió la temperatura en el rumen, así como en el laboratorio ya que si presentaba temperaturas menores de 36.5 °C y mayor de 38 °C, se repetía el muestreo ya que , temperaturas extremas afectan el funcionamiento adecuado de los microorganismos ruminales. En la técnica tradicional se extrajo el líquido ruminal introduciendo un vaso de precipitado de 100 ml., luego se filtró utilizando cuatro capas de gasa pasándose a un matraz con capacidad de un litro para ser llevado al laboratorio y checar temperatura, Ph y empezar a realizar las mezclas para las muestras a incubar. Los muestreos se realizaron en un período de cuatro semanas (lunes 8 a.m.) respetando el horario para los cuatro muestreos.

Procesamiento para los análisis en el Laboratorio Utilizando las dos Técnicas (Tradicional y la de Reading).

Preparación de la Muestra.

Para la determinación del contenido de materia orgánica de cada muestra en este caso alfalfa por triplicado se pesó exactamente 1.0 g, esta muestra fue secada a 100 °C por 24 h, en seguida se pusieron a enfriar, en un desecador por 15 min, se pesaron y se registró el peso hasta el tercer decimal como mínimo, en seguida la muestra se incineró a 500 °C por 8 h como mínimo, se enfrió y después se registró el peso.

Blancos y Estándares Utilizados en la Digestibilidad.

Se identificaron tres tubos vacíos para ambas técnicas para incubar un “standard” de laboratorio de digestibilidad *in vivo* conocida para poder evaluar la predicción de las “corridas”. Se pesó 0.5 g de muestra de alfalfa y se colocaron en tubos de 100 ml perfectamente numerados para la digestión *in vitro*

Preparación de soluciones e Inoculación de las Muestras de Alfalfa para la digestibilidad.

Antes de hacer la inoculación se aplicó 1 ml de agua para evitar volar la muestra colocada en el tubo, así como 1 ml de la solución de sulfato de amonio, en el cual se diluyen 66.0 g en agua destilada hasta hacer un litro, esta solución se agrega con la finalidad de asegurar que exista suficiente nitrógeno para que los microorganismos trabajen.

Para la elaboración de la solución buffer se utilizaron 18.5 grs de Ortofosfato disódico y se mezcló con 300 ml de agua y 49.0 g de bicarbonato de sodio, se mezcló con 300 ml de agua, una vez disueltas las dos sales se juntan y se completan a 900 ml con agua destilada, estas soluciones fueron

puestas en refrigeración, ya que se elaboraron un día anterior, las mezclas de cloruros mencionadas anteriormente fueron diluidas en dos lts de agua destilada, de esta solución sólo se utilizaron 100 ml para hacer un litro de saliva artificial, en esta solución buffer no existió cambio ya que son las mismas cantidades que ha utilizado Tilley y Terry (1963). Pero en la elaboración de mezcla de cloruro si existió cambio, ya que se agregó doble cantidad de reactivos en la técnica modificada como se muestra en los cuadros 3.2, 3.3, 3.4 y 3.5.

Cuadro 3.5. Cantidades de Reactivos Utilizados para la Elaboración de la Saliva Artificial en la técnica tradicional y la de Reading de Digestibilidad *in vitro*.

Tradicional Tilley y Terry (1963). Cantidad	Reading. Univ.de Reading Inglaterra(1992) Cantidad.
49.0 g NaHCO ₃	49.0 g NaHCO ₃
18.5 g Na ₂ HPO ₄	18.5 g Na ₂ HPO ₄
28.5 g KCl	57.0 g KCl
23.5 g NaCl	47.0 g NaCl
6.0 g MgCl ₂ H ₂ O	12.0 g MgCl ₂ H ₂ O
2.0 g CaCl ₂	4.0 g CaCl ₂

Se utilizaron 640 ml. de líquido ruminal después de que fue filtrado a través de una media de licra e introducido en un matraz previamente calentado en el incubador. Esto fue rápido para evitar pérdidas de calor en el proceso, en 520 ml. de solución buffer y 2080 ml. de agua destilada para incubar un total de 60 muestras, esta solución buffer se calentó a 38 °C y se burbujeó con dióxido de carbono (Co2) hasta saturación, lo cual se logra cuando la solución se torna clara.

Los requerimientos según los tubos o muestras pueden observarse en el cuadro 3.6 para ser utilizadas en la técnica de Reading.

Cuadro 3.6. Solución Digestiva Utilizada en la Técnica de Reading.

No. Tubos	Líquido Ruminal	Sol. Buffer	Agua
	(ml)	(ml)	(ml)
20	216	174	686
40	432	348	1382
60	650	520	2080
75	1300	1040	4160
100	1300	1040	4160

Después de que se mezcló el líquido ruminal a la solución buffer se continuó burbujeando y se agregaron 50 ml de mezcla (solución digestiva)

dentro de cada tubo y se colocó el tapón con su válvula (aguja) a cada tubo, y también se voltearon los tubos para asegurar que la muestra esté en la solución y no pegada a las paredes sin tocar la mezcla digestiva, las gradillas fueron puestas rápidamente en una estufa calibrada a 38 °C como lo señala la técnica baño María, a igual temperatura, estas fueron incubadas a 48 hr y después de esta fase se aflojan los tapones con su válvula (aguja) y se dejan descansar por 30 minutos.

Segunda Etapa HCl más Pepsina.

En esta etapa se tira el sobrenadante de las muestras puestas con la metodología tradicional y para la técnica de reading no se tira, ahí mismo se le inyecta 1.5 ml de la solución preparada de pepsina y HCL al 38 por ciento muy cuidadosamente para evitar la formación de espuma, e igualmente para la tradicional. Se dejaron nuevamente a descansar los tubos como se hizo anteriormente y después se inyectan 3.5 ml de la solución de pepsina / HCL. Se aprietan los tapones y se dejan a incubar por tiempo de 48 hrs como segunda y última fase.

Filtrado de las Muestras de la Digestibilidad.

Como segunda y última fase se sacaron todos los tubos del incubador, tanto del baño María, como de la estufa, se filtró en filtros de Alundum de 80 X 25 mm previamente pesados. Para evitar pérdidas se limpiaron los tapones con un mínimo de agua y después se pusieron en la estufa en un período de 24 hrs después se colocaron a enfriar en desecadores y después se pesaron para obtener los valores de materia seca. Primero se calcularon los standards para estar seguros que la "corrida" ha trabajado. Después se colocaron las muestras en la mufla durante 12 hrs se sacaron las muestras de la mufla, se enfriaron y se pesaron para la determinación de materia orgánica.

Análisis Estadístico.

Los datos de los muestreos fueron capturados en una hoja electrónica (Quatro Pro, 1993). Para el análisis estadístico se utilizó un modelo de Factores Anidados para estimar las fuentes de variación importantes de las dos técnicas (tradicional y de Reading) para determinar la exactitud y precisión de las técnicas de digestibilidad in vitro (SAS, 1991).

Digestibilidad in vitro de cinco Forrajes y Alimento Mediante la Técnica de Reading.

Utilizando la técnica de Reading se determinó la digestibilidad *in vitro* de cinco diferentes tipos de forrajes y un concentrado los cuales fueron: paja de sorgo, rastrojo de maíz, , alfalfa, paja de frijol, paja de avena y ración

respectivamente. Estos forrajes fueron analizados siguiendo la metodología de digestibilidad *in vitro* de Reading debido a que ya se había hecho la comparación de las dos técnicas con alfalfa en donde los datos mostraron claramente la diferencia siendo más homogéneos con la técnica de Reading.

De igual manera para la recolección de líquido ruminal, se estandarizó la técnica *in vitro* utilizando la metodología de Reading, en donde las variantes son la extracción de líquido ruminal con bomba, el líquido puesto inmediatamente en un termo, se midió la temperatura en el rumen, así como en el laboratorio ya que si presentaba temperaturas menores de 36.5 °C y mayor de 38 °C, se repetía el muestreo. La mezcla de reactivos utilizada para la elaboración de la saliva artificial con la técnica de digestibilidad *in vitro* de Reading, fue el doble de la cantidad que se aplicó para la técnica tradicional, la cual se puede observar en el (cuadro 3.5.).

En la segunda etapa (HCl más pepsina) el sobrenadante no se tira y ahí mismo se le inyecta 1.5 ml de la solución preparada de pepsina y HCl muy cuidadosamente para evitar la formación de espuma. Se dejaron nuevamente a descansar los tubos como se hizo anteriormente y después se inyectan 3.5 ml de la solución de pepsina/HCl, se aprietan los tapones y se dejan incubar por un tiempo de 48 hr como segunda y última fase.

Predicción de la Energía Metabolizable de Forrajes y Alimento

Partiendo de la Digestibilidad in vitro de Reading.

Animales y manejo.

Se utilizaron los mismos animales empleados en el experimento (estandarización con alfalfa), en las mismas condiciones de alojamiento, manejo y alimentación.

Forrajes en Estudio.

Se analizaron cinco forrajes y un concentrado.

Variables Medidas.

Las variables que se midieron en el presente trabajo fueron similares a las observadas en la comparación antes mencionada.

Proceso para la Estimación de la Energía Metabolizable de los Forrajes.

Para estimar este parámetro se utilizó la ecuación propuesta por Minson (1990) donde el resultado de la digestibilidad *In vitro* es multiplicada por una

constante en este caso para forrajes es 0.15 y el cual es estimado en joules por lo que es necesario transformarlo a Mcal, y el valor es dividido entre 4.184 ya que este es el equivalente al joule.

Análisis Estadístico.

Los datos primero fueron capturados en una hoja electrónica (Quatro Pro, 1993) y después se analizaron utilizando un modelo de análisis de varianza, y análisis de regresión por medio del paquete estadístico SAS (1991).

RESULTADOS Y DISCUSION.

En el cuadro 5.1. se observan las medias obtenidas en la digestibilidad in vitro de materia seca, materia orgánica digerible de la alfalfa (Moapa) encontradas con la técnica tradicional, encontrando gran variación entre las medias de las cuatro corridas. Para materia seca la medias fueron las siguiente, 65.6, 67.4, 66.2, 64.1 por ciento, para materia orgánica, 65.3, 64.3, 63.5, 61.3 por ciento, y para materia orgánica digerida, 58.4, 58.0, 56.80, 54.7 por ciento, respectivamente.

Euzárraga(1988) menciona que al comparar la técnica de Tilley y Terry(1963) y la modificación de Barnes (1969), encontraron que la digestibilidad de la materia seca de alfalfa por el método de Tilley y Terry fue de 68.7 por ciento y 78.2 por ciento para la técnica de Barnes. Los resultados de este trabajo de digestibilidad de ambas técnicas están en los promedios de aceptación, sin embargo, los valores mínimos y máximos de las repeticiones de los tratamientos (Tilley yTerry, 57.5 a 84.3, Barnes, 73.0 a 84.3) están muy separados de la media, lo que indica que falta precisión en la aplicación de estas técnicas. En el cuadro 5.2. se muestran las medias encontradas en la

digestibilidad *in vitro*, utilizando la técnica de Reading siendo para materia seca de alfalfa (Moapa), 69.8, 70.0, 69.7, 69.9 por ciento, para materia orgánica fueron de 70.3, 67.1, 66.8, 66.9 por ciento y para materia orgánica digerida fueron de 62.8, 59.9, 59.6, 59.7 por ciento, respectivamente. Estos resultados que se obtuvieron en la comparación de la alfalfa (Moapa) con la técnica tradicional y la técnica de Reading se muestran más claramente en la figura 5.1 y 5.2 en donde las medias de digestibilidad *in vitro* con la técnica de Reading son más uniformes. La energía metabolizable se observa en la figura 5.3.

En base a los resultados obtenidos con la técnica tradicional y con la técnica de Reading se encontró diferencia significativa ($P < 0.01$), encontrándose menores valores en la técnica tradicional, y mayor valor en los coeficientes de variación. Estas variaciones se pueden deber a la baja temperatura en que llega el líquido ruminal al laboratorio ya que presentó una temperatura de 33.4 °C, esta temperatura no es considerada como buena en la técnica de Reading, el manejo del baño María y las soluciones utilizadas, probablemente afectaron la digestibilidad. Por lo tanto la técnica tradicional no puede ser una de las más precisas para la determinación de digestibilidad in vitro como lo mencionan Dhanoa y Deriaz (1984), Llamas y Tejada (1990).

Sin embargo la técnica de Reading presentó resultados mayores y con un coeficiente de variación de 0.38 por ciento para MS, MO y DOMD como se

observa en el cuadro 5.2, los cambios que se le hicieron a la técnica de Reading favoreció a la precisión y exactitud de los resultados. Las modificaciones fueron la extracción del líquido ruminal con bomba, el checar la temperatura del rumen antes de extraer el líquido ruminal así como en el laboratorio; la temperatura promedio en la técnica modificada fue de 37 °C, el agregar 1 ml de Sulfato de Amonio y por ultimo el poner los tubos en la estufa a 38 °C y el no tirar el sobrenadante sino agregar la pepsina en el tubo con el sobrenadante.

Cuadro 5.1. Digestibilidad in vitro de la Materia Seca, Materia Orgánica, Materia Orgánica Digerida de la alfalfa con la técnica tradicional.

Determinacion	Sem I	Sem II	Sem III	Sem IV	C V
Digest. de la materia seca	65.60	67.44	66.10	64.11	3.3
Digest. de la materia orgánica	65.31	64.31	63.50	61.30	4.0
D.O.M.D. (%)	58.4	58.0	56.80	54.70	3.7
E.M. (M cal)	8.76	8.7	8.5	8.2	0.5

Cuadro 5.2. Digestibilidad in vitro de Materia seca, Materia Orgánica, Materia Orgánica Digerida de la alfalfa con la técnica de Reading.

Determinación	Sem I	Sem II	Sem III	Sem IV	C V
Digest. de la Materia Seca	69.80	70.02	69.64	69.90	0.38
Digest. de la Materia Org.	70.33	67.12	66.80	66.90	0.32
D.O.M.D. (%)	62.83	59.97	59.64	59.73	0.33
E.M. (M cal)	9.4	8.9	8.9	8.9	

Resultados de la Temperatura.

En el cuadro 5.3 se muestran las temperaturas en que llegó el líquido ruminal al laboratorio durante las cuatro semanas, en el cual se puede observar que no existió diferencia significativa ($P > 0.05$) entre semana, en la técnica tradicional se encontraron temperaturas más bajas de 31 a 34 °C encontrando un coeficiente de variación de 5 por ciento, estas temperaturas pueden afectar la digestibilidad.

Al utilizar la metodología de la técnica de Reading se obtuvieron temperaturas promedio de 36.5 a 37.7 °C, no encontrando diferencia significativa ($P > 0.05$) entre animal - semana; estas temperaturas son las más

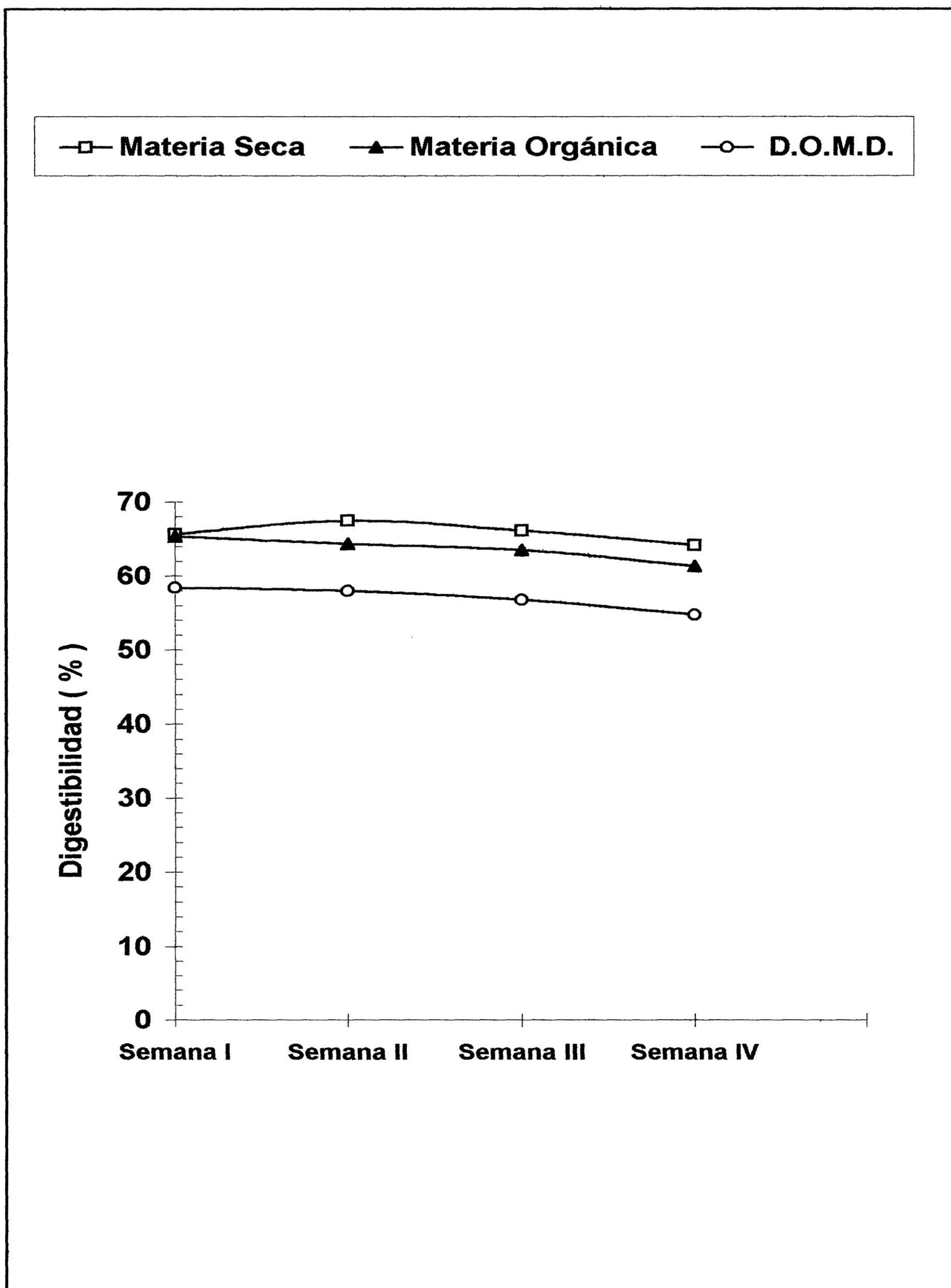


Figura 5.1 Medias de Digestibilidad in vitro de la alfalfa con la técnica tradicional

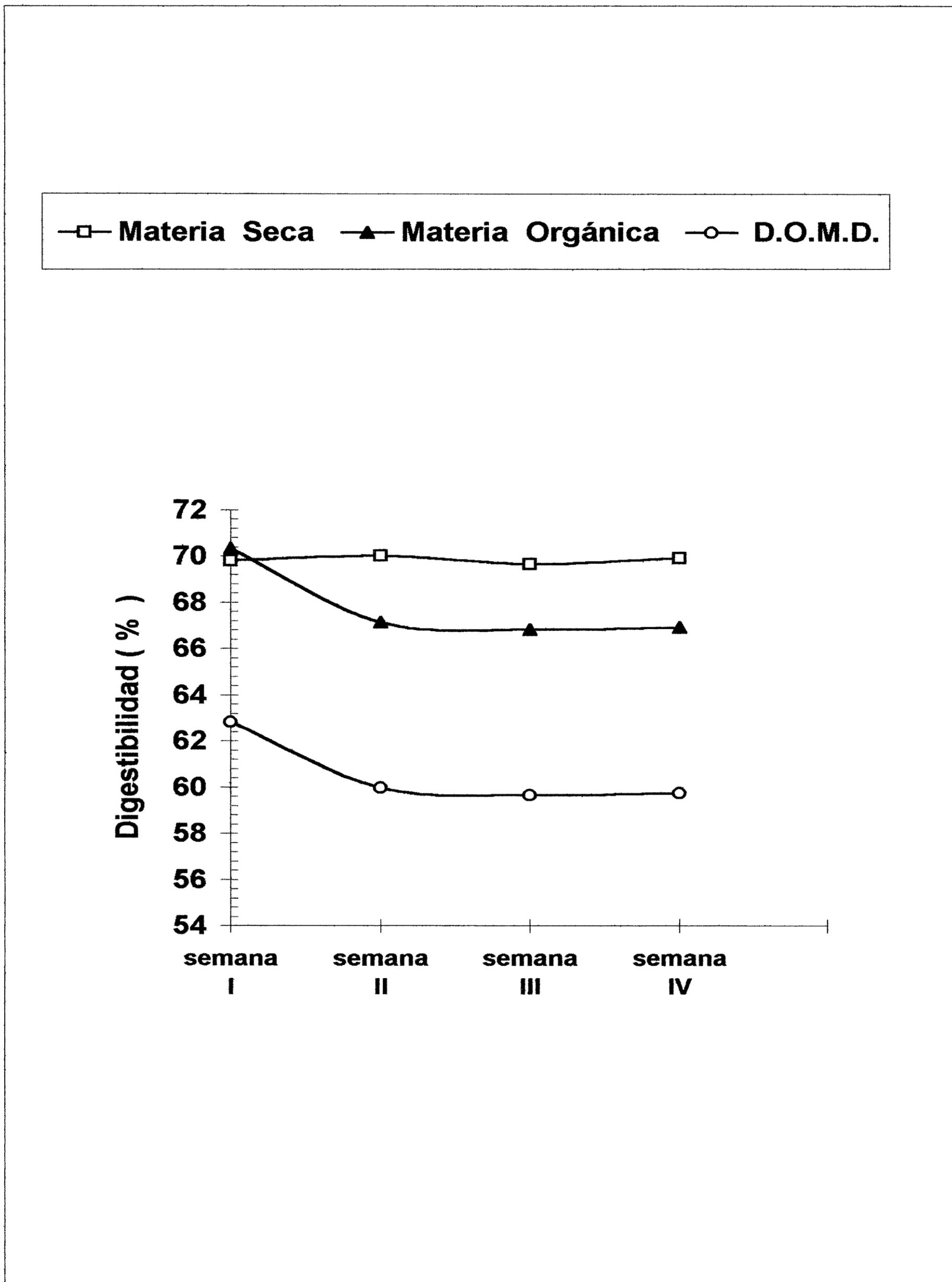


Figura 5.2 Medias de Digestibilidad in vitro de la alfalfa con la técnica de Reading

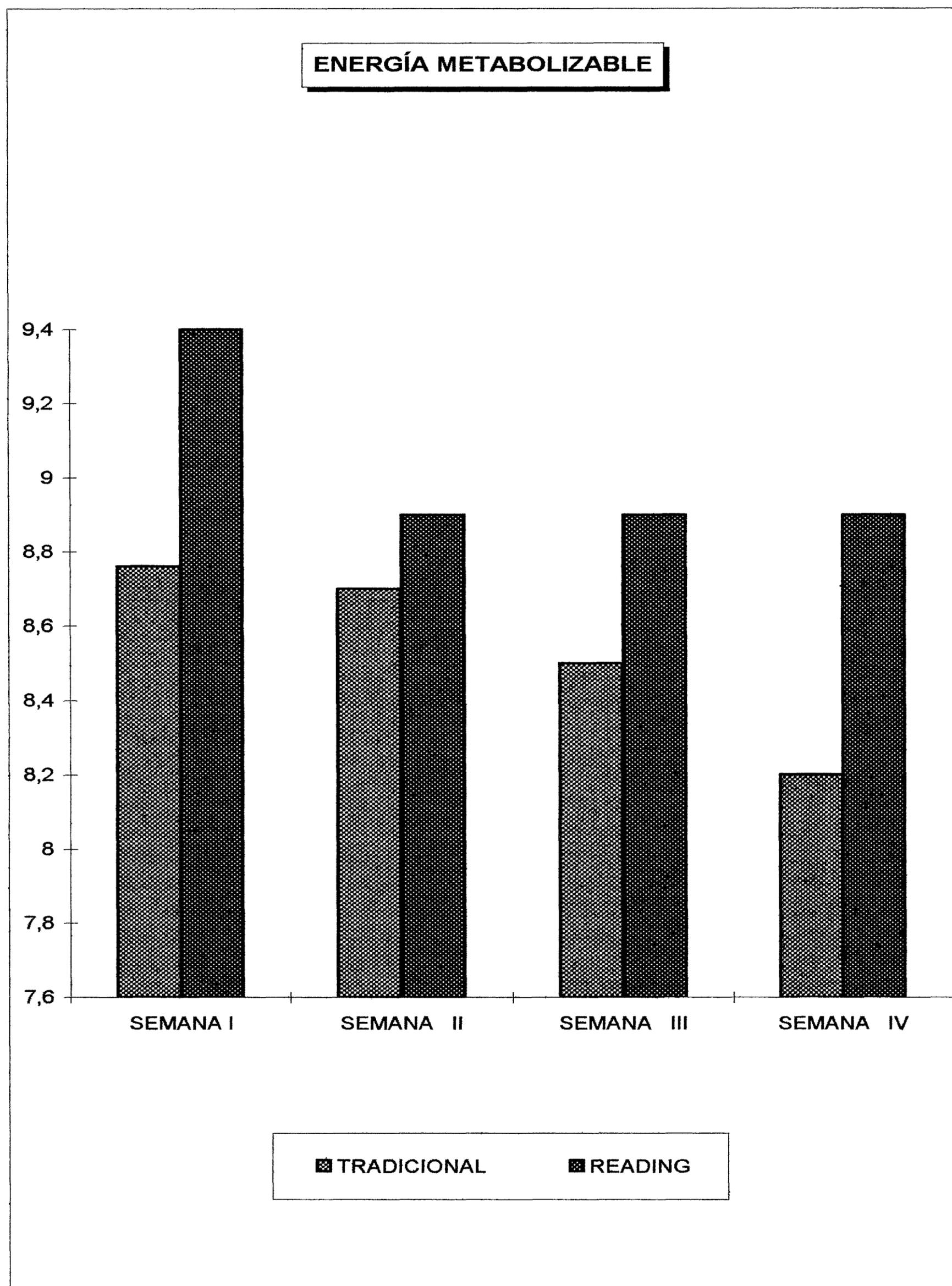


Figura 5.3. Energía metabolizable de la Alfalfa, obtenida con las técnicas Tradicional y de Reading

aceptables ya que la temperatura óptima para que los microorganismos trabajen es de 37 °C.

En las temperaturas entre técnicas si se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$), lo cual, parece indicar que al utilizar la técnica de Reading hay menor variación que en la técnica tradicional lo cual afecta los valores de digestibilidad, ya que los microorganismos del rumen requieren de un rango de temperatura de 36 a 37 °C. Los resultados de las temperaturas del líquido ruminal extraído se observa en el cuadro 5.3 y 5.4. Así mismo el comportamiento y las variaciones de las temperaturas en el líquido ruminal de cada animal por semana se muestra en las figuras 5.3 y 5.4 respectivamente.

Cuadro 5.3. Temperaturas del Líquido Ruminal extraído por el Método Tradicional.

Animales	Semana I	Semana II	Semana III	Semana IV
Animal I	31.0	33.5	33.0	33.0
Animal II	34.0	35.0	34.0	33.5

Cuadro 5.4. Temperaturas del Líquido Ruminal extraído por el Método de Reading.

Animales	Sem I	Sem II	Sem III	Sem IV
Animal I	36.0	37.5	36.0	37.5
Animal II	36.5	37.0	37.0	37.5

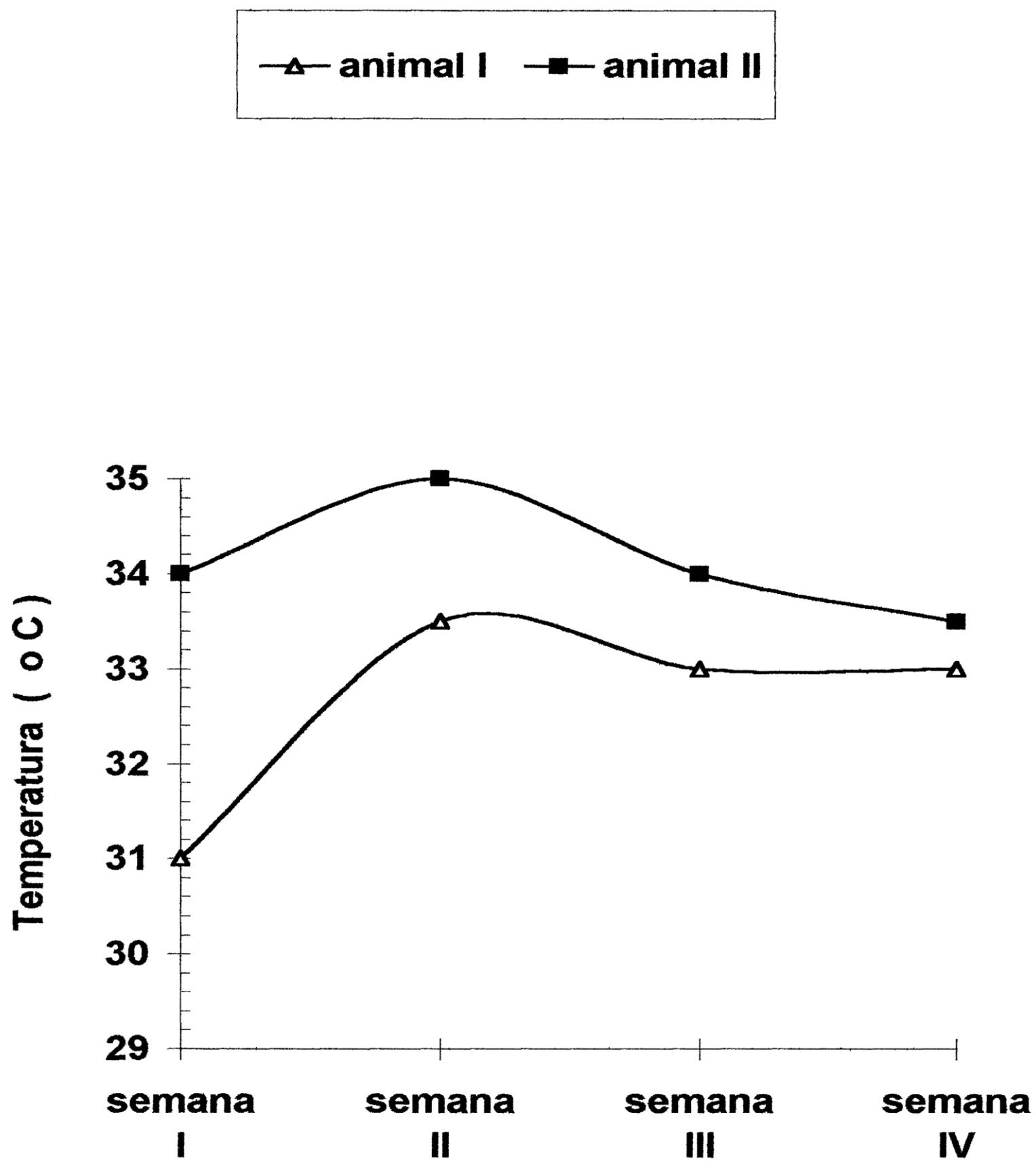


Figura 5.4 Temperatura del líquido ruminal, extraído por el método tradicional

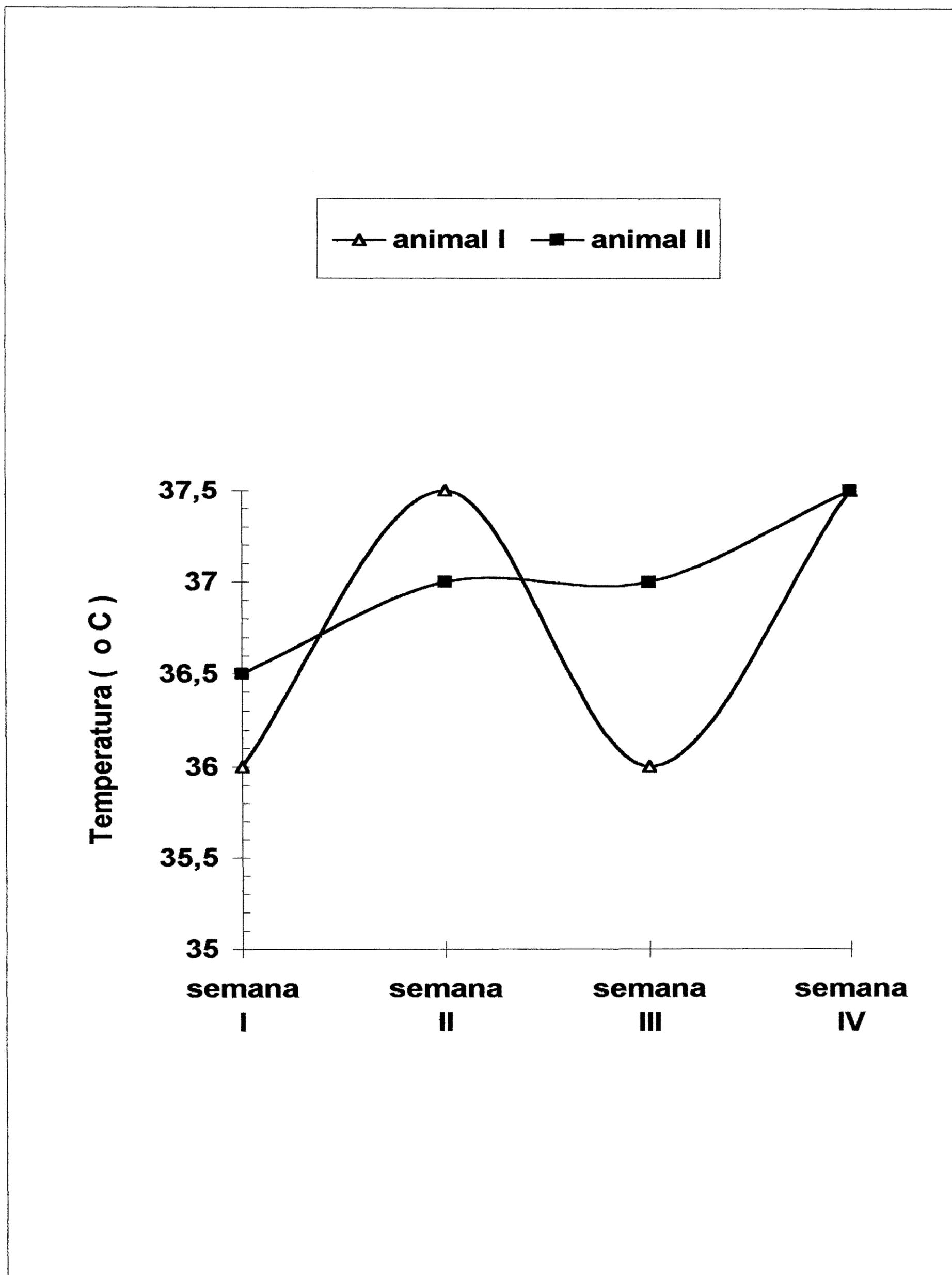


Figura 5.5 Temperatura del líquido ruminal, extraído por el método de Reading

Resultados del Experimento con Cinco Forrajes y un Alimento

Concentrado con la Técnica de Reading.

En el cuadro 5.5 se observan los resultados de la digestibilidad *in vitro* obtenidos con la técnica de Reading, de paja de sorgo, rastrojo de maíz, alfalfa (Velluda peruana), paja de frijol, paja de avena y ración. No se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$), encontrándose valores para la materia seca de la paja de sorgo de 49.58 a 50.75 por ciento, para materia orgánica de 50.13 a 51.32 por ciento y para digestibilidad de materia orgánica digestible (D.O.M.D.) de 44.55 a 45.61 por ciento, encontrándose un coeficiente de variación de 1.1 por ciento. En el rastrojo de maíz se encontraron valores de 54.03 a 55.70 por ciento para materia seca, de 53.68 a 55.04 por ciento para materia orgánica; la DOMD fué de 49.07 a 50.31 por ciento con un coeficiente de variación de 1.3 por ciento.

En la alfalfa (Velluda peruana) se encontraron valores de 75.48 a 76.79 por ciento para materia seca de 75.05 a 77.41 por ciento para materia orgánica y para DOMD 64.39 a 66.42 por ciento, con un coeficiente de variación de 1.8 por ciento. La paja de frijol presento digestibilidades de materia seca de 40.84 a 44.11 por ciento, de 39.21 a 42.80 por ciento, para materia orgánica y la DOMD de 37.59 a 41.03 por ciento con un coeficiente de variación de 3.3 por ciento. En la paja de avena se encontraron resultados de

materia seca de 32.41 a 53.64 por ciento, para materia orgánica fue de 50.30 a 56.53 por ciento, DOMD de 52.59 a 54.56 por ciento con un coeficiente de variación de 3.1 por ciento. Para la ración se encontraron valores de 60.17 a 62.29 por ciento para materia seca y materia orgánica de 60.43 a 62.03 por ciento y de DOMD de 57.14 a 58.73 por ciento con un coeficiente de variación de 1.7 por ciento. Estos resultados se muestran también en las figuras 5.6.1, 5.6.2, 5.6.3, 5.6.4, 5.6.5, 5.6.6 y 5.7. En la figura 5.6.4(paja de frijol) y 5.6.5(paja de avena) el rango de las medias de digestibilidad *in vitro* está un poco separado y ésto afectó porque al momento de inyectar la pepsina y Hcl se tiró un poco de espuma y por tanto el resultado difirió un poco.

Todas las medias obtenidas están muy uniformes lo cual indica que las modificaciones que se hicieron por la técnica de la Universidad de Reading, Inglaterra (1992), favoreció a obtener datos más precisos.(Al igual que a la alfalfa como a los otros forrajes se le hizo la extracción del líquido ruminal con bomba, la temperatura del rumen se checó antes de extraer el líquido ruminal así como también en el laboratorio). Los tubos de las muestras se pusieron en una estufa a 38 °C y el sobrenadante de las muestras no se tiró sino que ahí mismo se le agregó la pepsina. Todos estos cambios que se hicieron por la técnica de Reading también favoreció a obtener coeficientes de variación más bajos por lo que aumenta aun más la confiabilidad de seguir utilizando la técnica de Reading. En el cuadro (5.6) se observan los coeficientes de

variación de la digestibilidad *in vitro* en materia seca, materia orgánica y la digestibilidad de la materia orgánica digestible con la técnica de Reading para paja de sorgo, rastrojo de maíz, alfalfa (Velluda peruana), paja de frijoñ, paja de avena y el alimento concentrado.

Cuadro 5.5 Digestibilidad *in vitro* y Energía Metabolizable de Forrajes y Alimento, Utilizando la Técnica de Reading.

Forraje	Materia Seca (%)	Materia Orgánica (%)	DOMD (%)	Energía Metabolizable
Paja de sorgo	50.21	50.67	45.03	6.75
Rastrojo de Maíz	54.63	54.06	49.42	7.41
Alfalfa	76.83	76.53	65.52	9.85
Paja de frijol	42.19	40.62	38.94	5.84
Paja de avena	52.73	58.18	53.36	8.0
Ración	61.46	62.02	57.78	8.64

Cuadro 5.6 Coeficientes de variación de los forrajes y alimento concentrado de la digestibilidad *in vitro* de materia seca, materia materia orgánica y DOMD con la técnica de Reading.

forrajes	materia seca	materia orgánica	DOMD
paja de sorgo	1.1	1.1	1.0
rastrojo de maíz	1.6	1.3	1.2
alfalfa	1.3	2.3	2.0
paja de frijol	3.2	3.5	3.4
paja de avena	1.2	1.2	1.9
ración	2.1	1.6	1.5

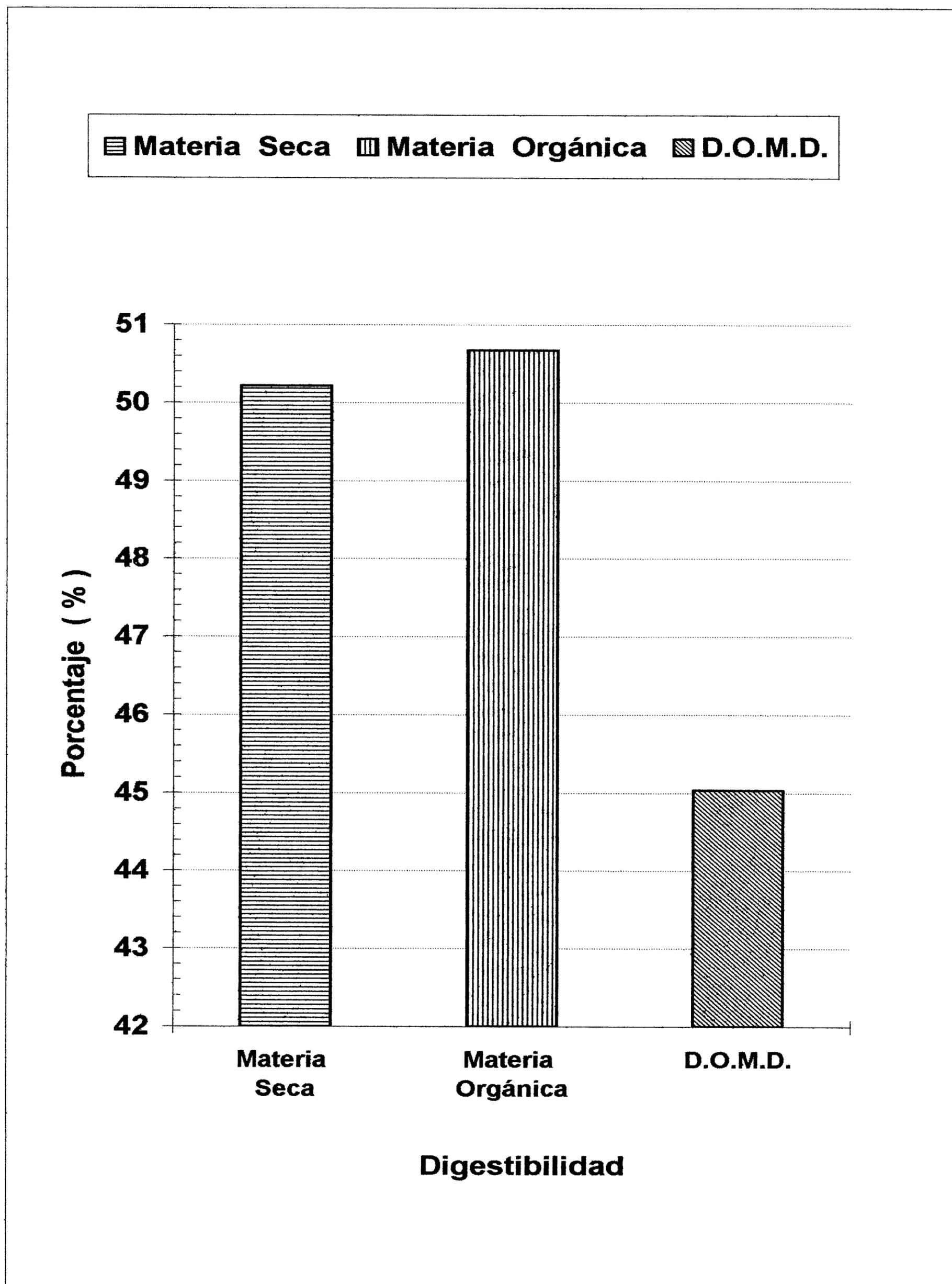


Figura 5.6.1 Medias de Digestibilidad in vitro utilizando la técnica de Reading para paja de sorgo

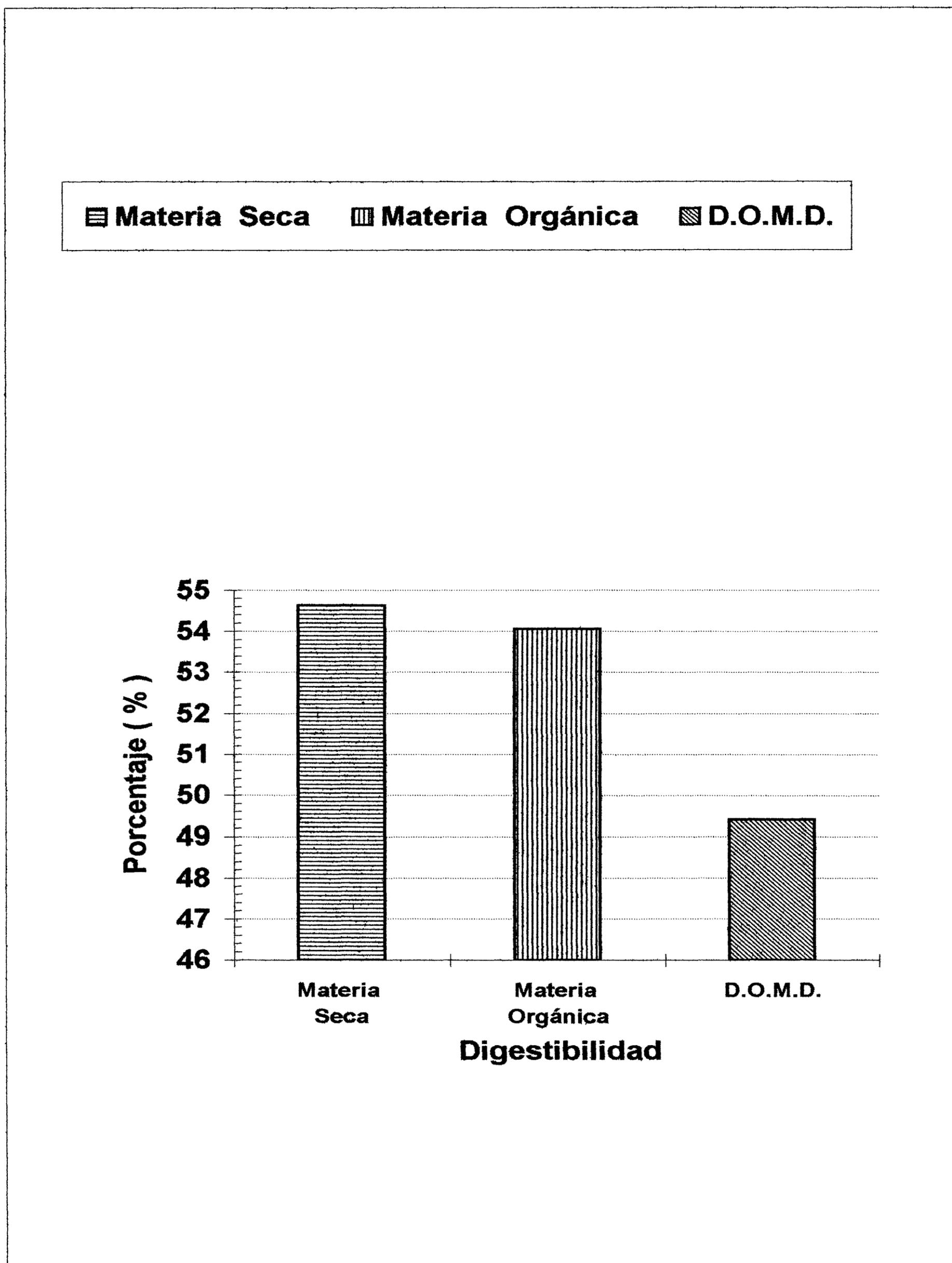


Figura 5.6.2 Medias de Digestibilidad in vitro utilizando la técnica de Reading para rastrojo de maíz

■ Materia Seca ■ Materia Orgánica ■ D.O.M.D.

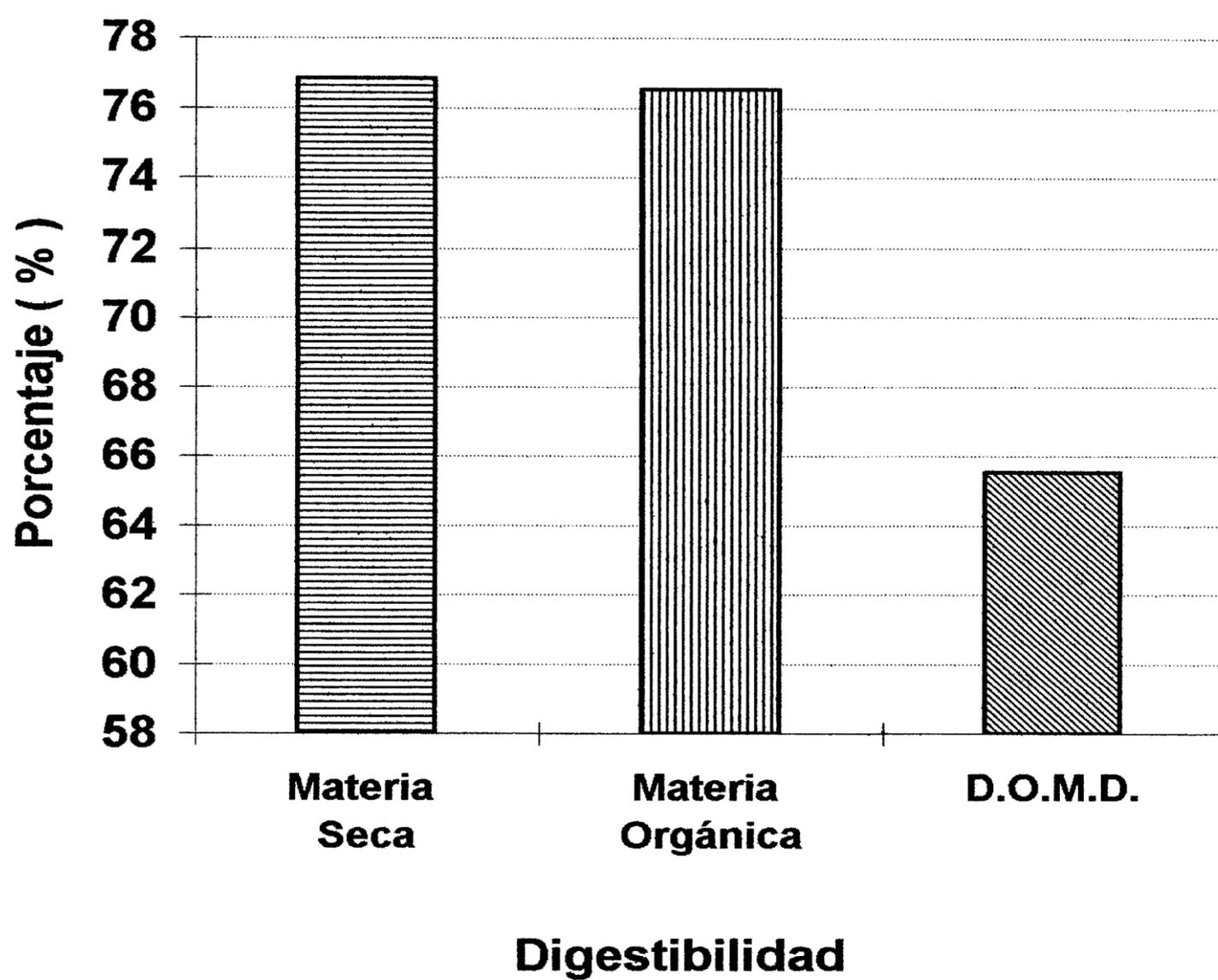


Figura 5.6.3 Medias de Digestibilidad in vitro utilizando la técnica de Reading para la alfalfa

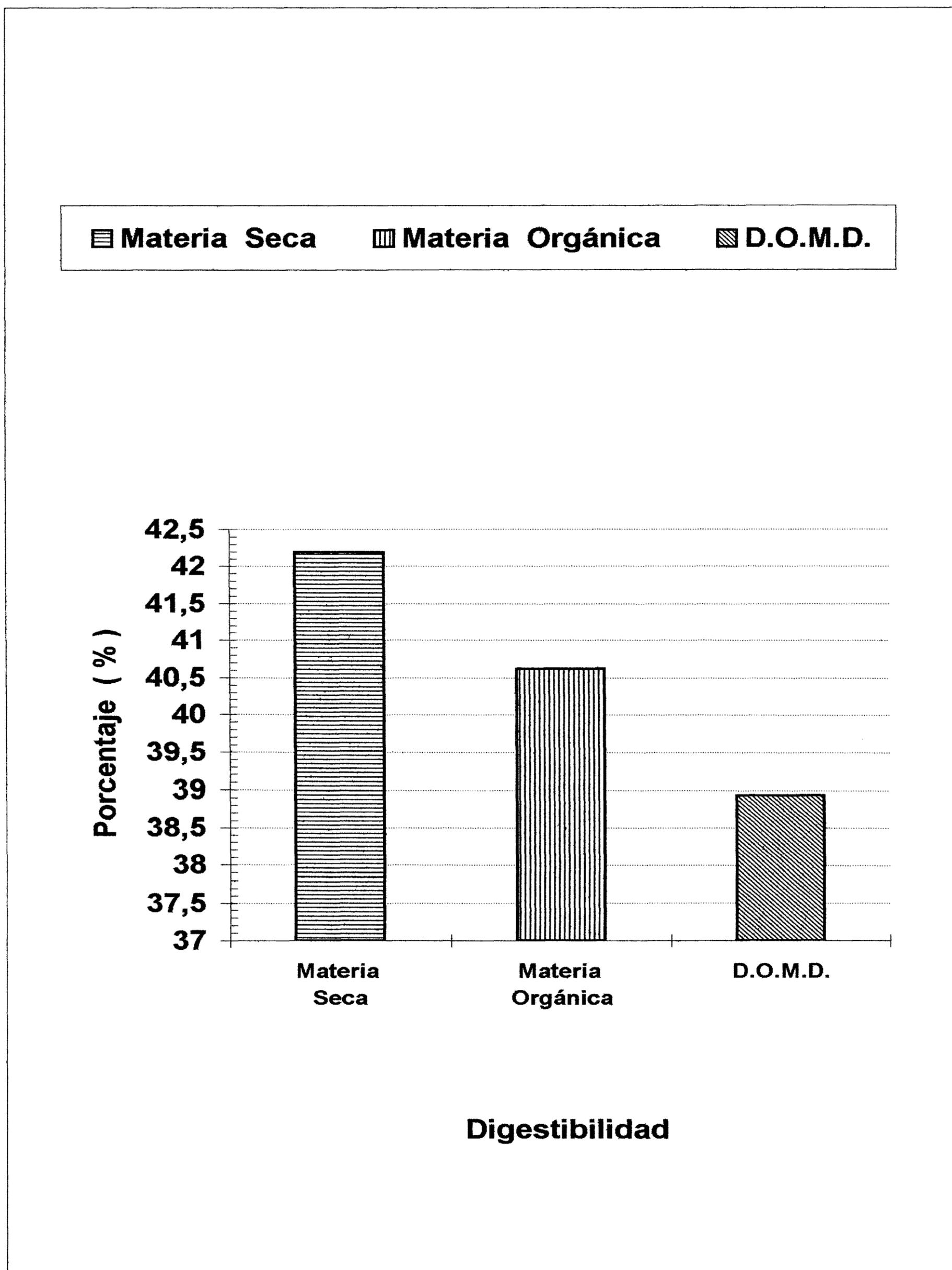


Figura 5.6.4 Medias de Digestibilidad in vitro utilizando la técnica de Reading para paja de frijol

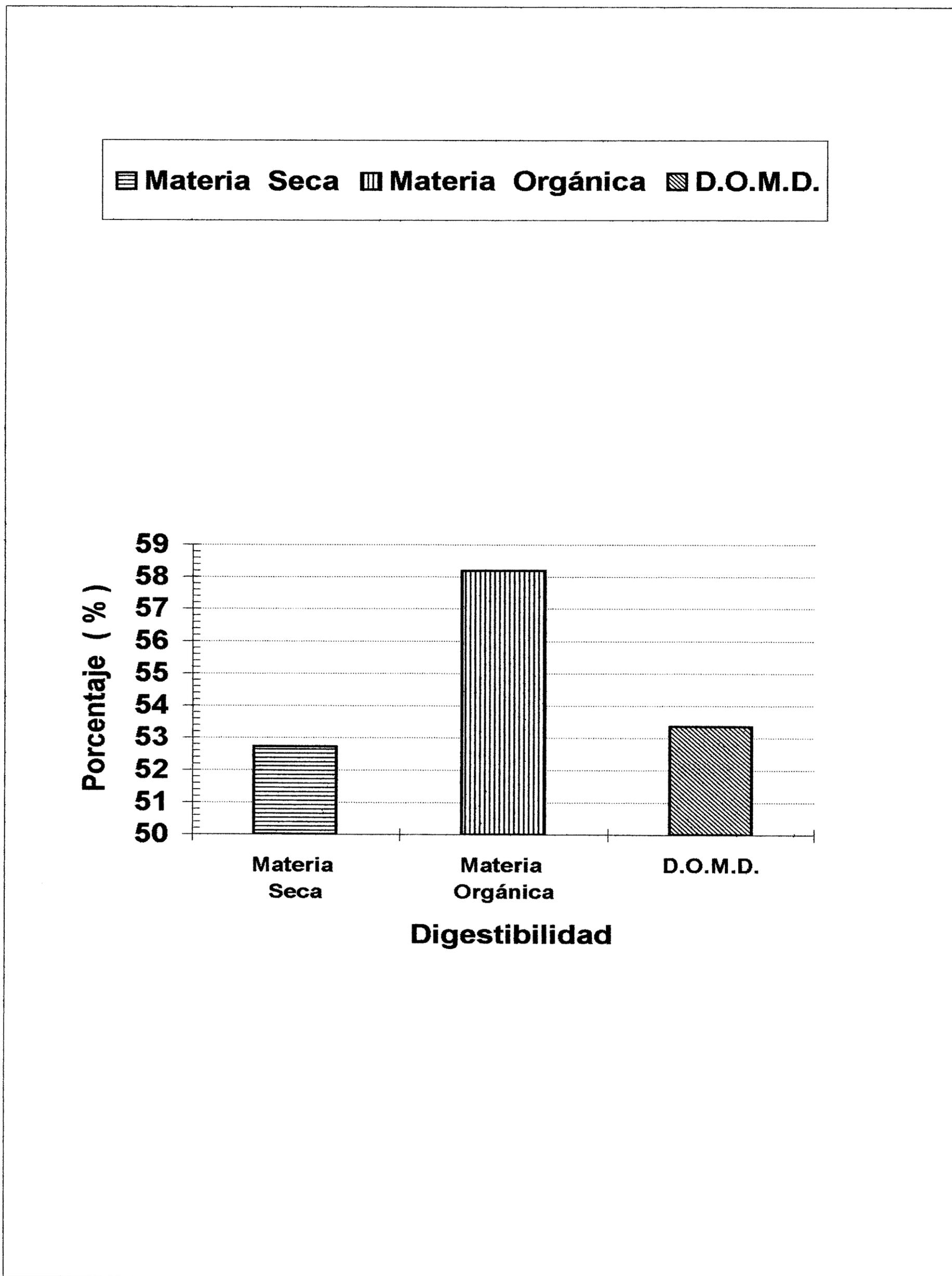


Figura 5.6.5 Medias de Digestibilidad in vitro utilizando la técnica de Reading para paja de avena

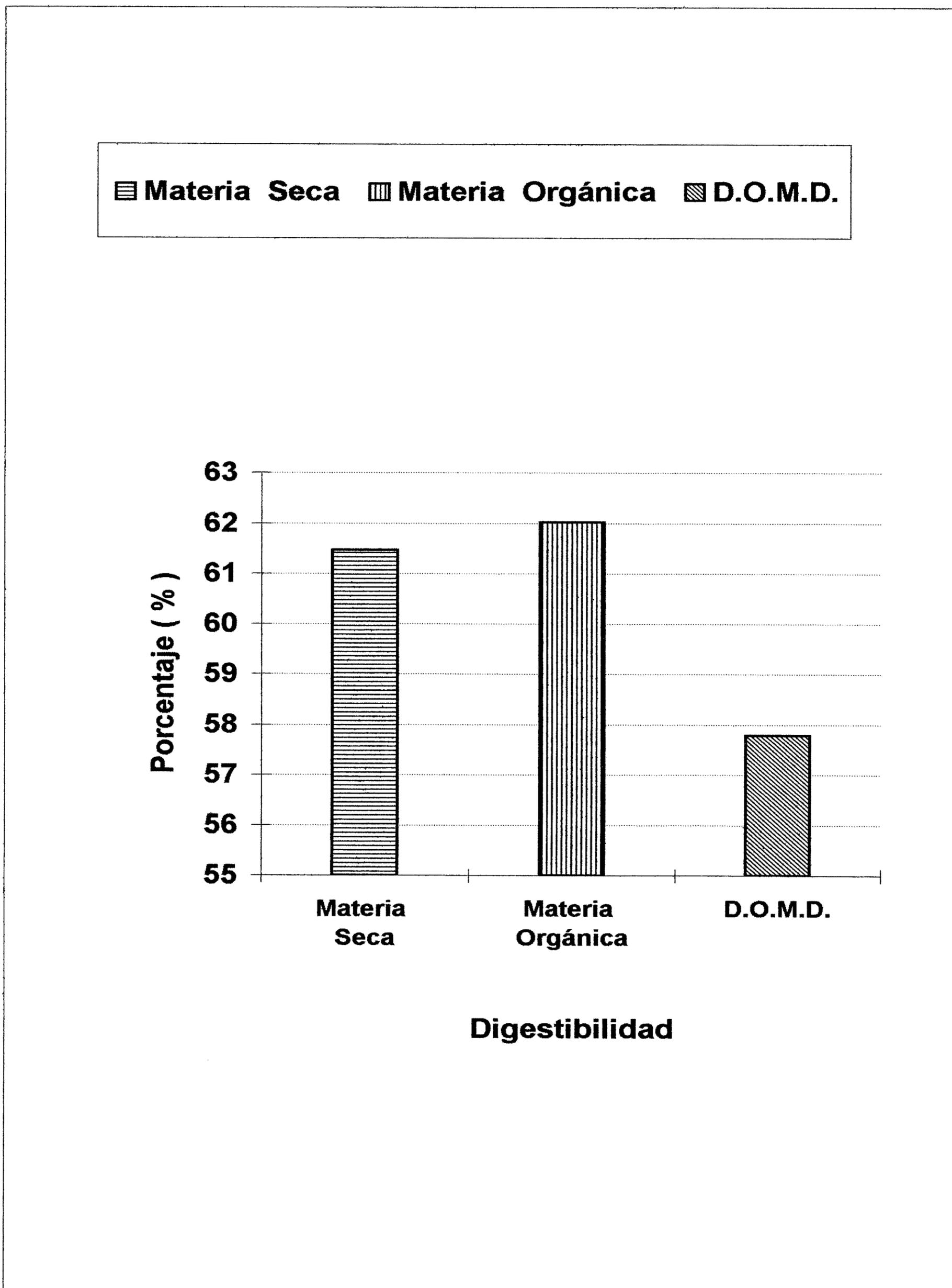


Figura 5.6.6 Medias de Digestibilidad in vitro utilizando la técnica de Reading para ración

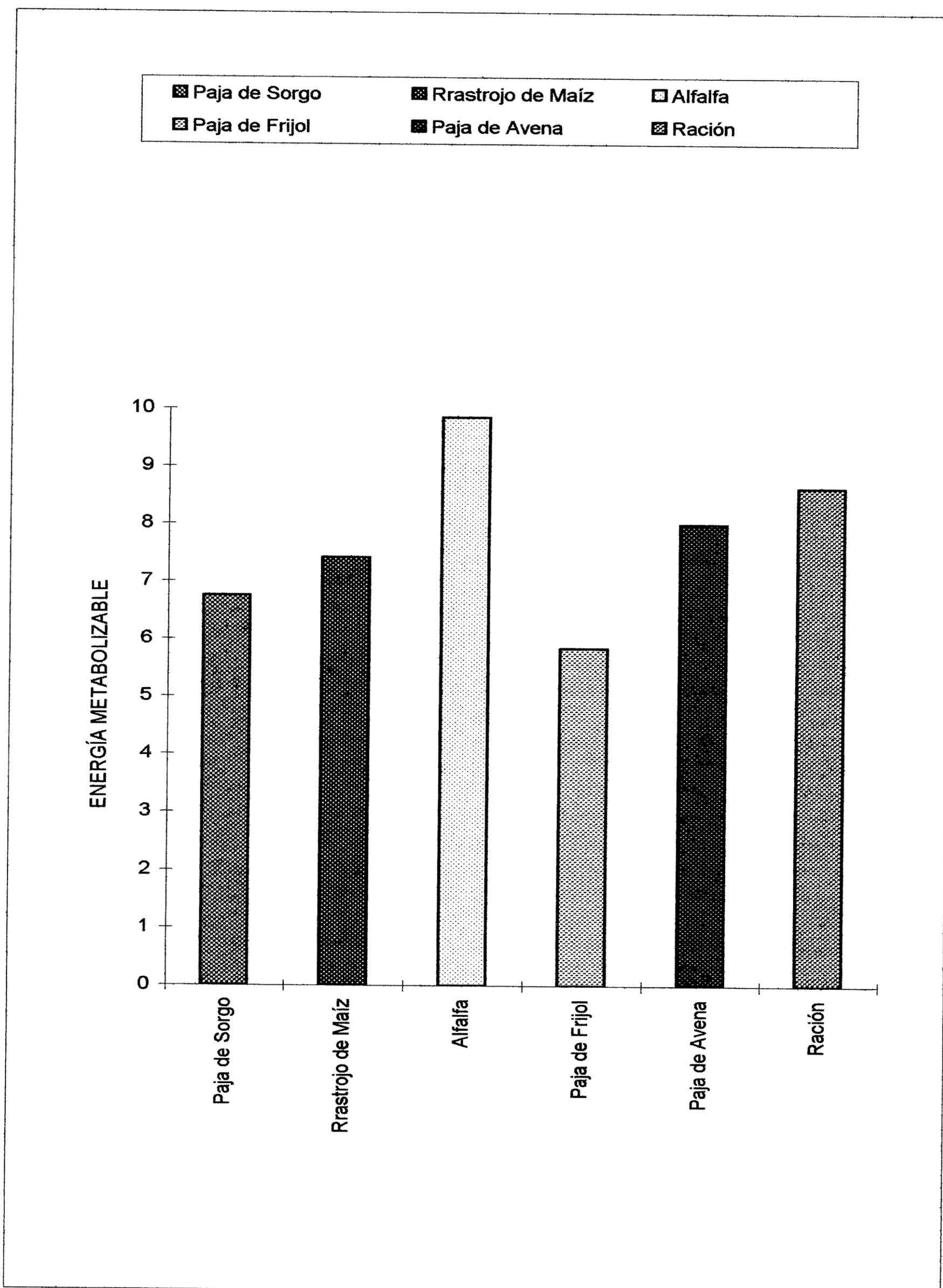


Figura 5.7. Energía Metabolizable de cinco Forrajes y un Alimento Concentrado con la Técnica de Reading

CONCLUSIONES.

Después de haber analizado y comparado los resultados de la digestibilidad *in vitro* de la alfalfa(Moapa) entre la técnica tradicional (Till y Terry) y la técnica de Reading, se encontró menos variación y más homogeneidad en las medias obtenidas en la digestibilidad *in vitro*, con la técnica de Reading.

Los coeficientes de variación fueron más altos para la técnica de Tilley y Terry y más bajos los obtenidos por la técnica de Reading, lo cual indica que esta última proporciona datos más precisos y uniformes.

Los cambios que se realizaron a la técnica de Reading favorecieron a obtener resultados más confiables, por lo que se recomienda utilizar esta técnica.

La técnica tradicional presenta hasta la fecha errores en el manejo como algunos autores lo señalan al encontrar resultados muy dispares.

Es importante mencionar, que los datos obtenidos de la digestibilidad *in vitro* de los cinco forrajes y un alimento, fueron más uniformes con la técnica

de Reading. También en los resultados obtenidos indican un coeficiente de variación más bajo, por lo que aumenta aun más la confiabilidad de seguir utilizando la técnica de Reading.

RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila; a 7 km al sur de Saltillo sobre la carretera a Zacatecas. Las coordenadas geográficas son 25° 22' latitud norte y 101° 01' longitud oeste, con una altura de 1742 msnm; la temperatura media anual es de 19.8 °C y una precipitación media anual de 298.5 ml. El clima es Bwhw (x) (e) según Mendoza(1983).

Los objetivos del presente trabajo fueron: determinar la digestibilidad *in vitro* de cinco forrajes y un concentrado mediante la técnica de Reading y comparar la digestibilidad *in vitro* de la alfalfa con la técnica tradicional (Tilley y Terry, 1963) y la técnica de Reading (Universidad de Reading, Inglaterra 1992).

Para el trabajo se utilizaron dos novillos fistulados ruminalmente con una edad promedio de tres años y un peso de 313 kilos, fueron alimentados según la NRC(1989) con alfalfa y paja de avena así como vitaminas y minerales. La alimentación se proporcionó por la mañana y por la tarde(8:00 y 18:00 hr) y agua ad libitum (cuadro 3.1).

El trabajo esta basado en la técnica de Tilley y Terry (1963), pero con una serie de modificaciones hechas por el departamento de Agricultura de la Universidad de Reading, Inglaterra (1992).

En la primera fase de fermentación se recolectó el líquido ruminal(inóculo) para ambas técnicas y luego se llevó al laboratorio para empezar a realizar las mezclas de las

muestras a incubar. Los muestreos se hicieron durante cuatro semanas (lunes 8:00 am), se pesó un gramo de muestra (forraje) para cada tubo a la cual se le agregó 640 ml de líquido ruminal previamente filtrado, 520 ml de solución buffer y 2080 ml de agua destilada para incubar un total de 60 muestras (cuadro 3.6). Las muestras fueron puestas en una estufa a 38 °C (técnica de Reading) y baño María (técnica tradicional) a igual temperatura y fueron incubadas a 48 hr.

En la segunda fase de digestión, se le inyecta a cada muestra 1.5 ml de una solución preparada de pepsina y Hcl al 38 por ciento en las dos técnicas. Se dejaron nuevamente descansar los tubos y se les inyectó 3.5 ml de la solución de pepsina/ Hcl; enseguida se dejan incubar por 48 hr como segunda y última fase.

Los datos fueron capturados en una hoja electrónica (Quatro pro, 1993) y después se analizaron utilizando un modelo de análisis de varianza y análisis de regresión por medio del paquete estadístico (SAS 1985).

Los parámetros que se evaluaron fueron: la digestibilidad *in vitro* de la materia seca, materia orgánica y materia orgánica digerida para paja de sorgo, rastrojo de maíz alfalfa, paja de frijól, paja de avena y la ración mediante la técnica de Reading y después la digestibilidad *in vitro* de la materia seca, materia orgánica y materia orgánica digerida de la alfalfa con la técnica tradicional y la técnica de Reading.

Los resultados de la digestibilidad *in vitro* con cinco forrajes y la ración con la técnica de Reading, indicaron que no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$), en

donde los valores de materia seca para paja de sorgo fué de 50.21 por ciento, 50.67 por ciento para materia orgánica y 45.03 por ciento para la digestibilidad de la materia orgánica digerida. En el rastrojo de maíz para materia seca fué de 54.63 por ciento, 54.06 por ciento para materia orgánica y 49.42 por ciento para la digestibilidad de la materia orgánica digerida.

En la alfalfa para materia seca fué de 76.83, 76.53 para materia orgánica y 65.52 para la digestibilidad de la materia orgánica digerida. Para paja de frijól fué de 42.19, en la materia seca, 40.62 en materia orgánica y 38.94 en la digestibilidad de la materia orgánica digerida. En la paja de avena 52.73 para materia seca, 52.73 para materia orgánica y 53.36 para la digestibilidad de la materia orgánica digerida. Para la ración 61.46 para materia seca, 62.02 para materia orgánica y 57.78 para la digestibilidad de la materia orgánica digerida.

Los resultados de la digestibilidad in vitro de la alfalfa con la técnica tradicional fué, para materia seca 65.6, 67.4, 66.2 y 64.1; de 65.3, 64.3, 63.5 y 61.3 para materia orgánica y la digestibilidad de la materia orgánica digerida de 58.4, 58.0, 56.8 y 54.7.

Con la técnica de Reading, la digestibilidad in vitro de la alfalfa para materia seca fué 69.8, 70.0, 69.7 y 69.9. De 70.3, 67.1, 66.8 y 66.9 para materia orgánica y la digestibilidad de la materia orgánica digerida de 62.8, 59.9, 59.6 y 59.7.

La conclusión de ésta investigación es que los resultados de la digestibilidad *in vitro* de los cinco forrajes y la ración, fueron más uniformes con la técnica de Reading. Los

cambios que se le hicieron a la técnica, favorecieron a obtener resultados más confiables que los obtenidos con la técnica tradicional, por lo que se recomienda utilizar la técnica de Reading.

LITERATURA CITADA.

- Alexander, R.H. and M. McGowan. 1966. The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forrages. An investigation of the problems associated with conditions on large scale operation J. Br. Grassl. Soc., 21:140. U.S.A.
- Alvarado, S.D y V.E. Riquelme. 1979. Evaluación de ensilaje de maíz y maíz-alfalfa. Efecto sobre el proceso de ensilado y digestibilidad *in vitro*. A.L.P.A. Vol. 14.
- ARC 1980. The Nutrient Requirements of Ruminant livestock. Commonwealth Agricultural Boreaw. Slougn, U.K.
- Barnes, R.F. 1969. Collaborative research with the two stage *in vitro* technique. Proc. National Conference on forage Evaluation and Utilization, Lincoln, Nebraska. U.S.A.
- Cowlshaw, S. J. and E.F. Unsworth, 1976. Factors affecting the *in vitro* digestibility of tropical grasses. Turrialba, 26:44.
- Dhaanoa, M. S. and R. E. Deriaz. 1984. Variability of the *in vitro* digestibility of standard herbage samples. Grass and forage Sci. 39:17. U.S.A.
- Euzárraga, P. 1988. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca y materia orgánica por las técnicas de Tilley y Terry (1963) y la modificación de Tilley y Terry por Barnes (1969). Segunda Reunión de Nutricion Animal, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Freer, M. 1981. The control of food intake by grazing animals. In:Morley, W.H. (De). Grazing animals. Ed. Elsevier. USA.
- Johnson, R. R., 1969. Techniques and procedures for *in vivo* and *in vitro* rumen studies. En: Techniques and procedures in animal science research. An. Soc. Anim. Sci. p 175. U.S.A.

- Llamas, L. G. y Tejada H. I. 1990. Tecnicas de laboratorio para el análisis de forrajes para rumiantes. Manual de técnicas de investigación en rumiología de. por Castellanos, R. A., Llamas, L., G., Shimada, S., A. México, D. F.
- M A F F (Ministry of Agriculture, Fishenes and Food). 1984. Energy allowances and Feeding Systems for ruminants. Reference Book No. 443. HMSO, London.
- Mendoza, H. M. 1983. Diagnóstico climático para la zona de influencia de la UAAAN, Saltillo, Coahuila, México. 41-46, 138-141, 147-151.
- Minson, D. J. and McDonald, C.K. 1987. Estimating forage intake from growth of beef cattle. Trop. Grass. 21(3):116-122. U.S.A.
- Minson, D. J. and M.N. McLeod, 1972. The *in vitro* techique: its modification for large numbers of tropical pasture samples. Division of tropical pastures, techical paper No. 8, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. Australia.
- Minson, D.J. 1990. Forage in ruminant nutrition. Academic Press.USA.
- Moore, J.E., R.R. Johnson and B. A. Dehority, 1962. Adaptation of and *in vitro* system to the study of starch fermentation by rumen bacteria. J. Nutr., 76:414. U.S.A.
- NRC. 1984. Nutrient requirements of beef cattle. Subcommittee on beef catle nutrition. Sixth revised edition . National Academy Press.USA.
- NRC. 1987. Predicting feed intake of food-producing animals. Subcommittee on feed intake. National Academy Press.USA.
- Pezo D. 1988. Curso de taller sobre metodología para la evaluación de pasturas en pruebas bajo pastoreo. CIAT. mimeo. Circulación privada. p19.
- Preston, R.L.1972. Nutritional Implications in economy of gain of feedlot cattle J. Anim. Sci. 35(1): 153-159. U.S

S.A.S. 1991. Introductory guide for personal computers, release 6.03 SAS. Institute Inc., Cary, N. C., U.S.A.

Tilley, J.M.A. and R.A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Brit. Grassl. Soc. 18:104. U.S.A.

University of Reading, Inglaterra. Estimate of the technique of *in vitro* digestibility

Vallentine, J. F. 1990. Grazing management. Academic Press. U.S.A.

Van Soest, P. J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant. O & Books. Oregon. U.S.A.

Zubal, P. 1978. Some results of the verification of the method of *in vitro* digestibility determination. Czechoslovakia, Herbage Abstrac. 50:4040. Czechoslovakia.