

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE ZOOTECNIA

Análisis de correlación y regresión entre la metodología de producción de gas y la ecuación mecanicista del Consejo Nacional de Investigación, EE. UU., (NRC 2001) para determinar el contenido energético *in vitro* de forrajes.

Walter Antonio Arce Ramírez

Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2016

HOJA DE APROBACIÓN

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.

Ing. Augusto Rojas Bourrillon, M.Sc. Director de tesis

Ing. Carlos Campos Granados, Lic. Miembro del tribunal

Ing. Jorge Alberto Elizondo Salazar, Ph.D Miembro del tribunal

Ing. Luis Villalobos Villalobos, Ph.D Miembro del tribunal

Ing. Carlos Arroyo Oquendo, M.Sc. Director de Escuela

Ing. Walter Arce Ramírez, Bach. Sustentante

DEDICATORIA

A Dios

A mis padres, Délcida Ramírez y William Ruiz

A mis hermanos

A mi novia María José Soto

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios por darme las fuerzas y ganas de concluir esta meta en mi vida, por darme la mayor bendición que es mi familia.

A mis padres por el apoyo y amor que brindan día a día, y hacer de mí una mejor persona.

A mis hermanos por estar ahí siempre que los necesito, por acompañarme en momentos difíciles y hermosos durante mi vida.

A mi novia por su amor y apoyo durante estos años.

A don Augusto Rojas por darme la oportunidad y confianza de llevar a cabo este proyecto y por sus enseñanzas a lo largo de estos años.

A los profesores Alejandro Saborío y Carlos Campos por su colaboración tan atenta en este proyecto, por su amistad y confianza depositada en mí.

A Felipe, Ronald, Erick y Adrián en el CINA por su apoyo, ayuda y amistad brindada durante el tiempo que se llevó a cabo el experimento.

A todo el personal del CINA que hicieron de esta experiencia un momento agradable e inolvidable.

A mis compañeros de cursos y estudiadas, Ana Ochoa, Yeilyn Castro, Jose Ramírez y Eduardo Montero, por hacer de esto una gran experiencia.

A mis amigos Angie Vega, Manuel Alfaro y Roger Gaitán, por su amistad durante tantos años.

A todos los profesores de la Escuela de Zootecnia, personal y compañeros.

A Agueda Serrano por su ayuda y consejos en relación a los trámites de la tesis.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
HOJA DE APROBACIÓN	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS	IV
ÍNDICE GENERAL	V
ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
INDICE DE ANEXOS	IX
RESUMEN	X
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
A. GENERAL:.....	3
B. ESPECÍFICOS:	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1. LA ENERGÍA EN LA NUTRICIÓN ANIMAL	4
3.2. CONTENIDO DE ENERGÍA EN FORRAJES TROPICALES.....	7
3.3. MÉTODOS DE PREDICCIÓN DE ENERGÍA	9
3.3.1. Modelo del National Research Council (NRC 2001).....	9
3.3.2. Producción de gas	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS	18
4.1. UNIDAD DE ESTUDIO	18
4.2. ANÁLISIS QUÍMICO Y BROMATOLÓGICO.....	18
4.3. MODELO DEL NRC (2001)	22
4.4. MODELO DE PRODUCCIÓN DE GAS IN VITRO.....	24
4.5. ENERGÍA METABOLIZABLE DE LOS DIFERENTES MATERIALES CON LAS ECUACIONES DE PRODUCCIÓN DE GAS	25
4.6. DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS	26
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
5.1. CONTENIDO ENERGÉTICO DE PASTOS Y ENSILAJES CON LA METODOLOGÍA DE NRC (2001)29	
5.2. PRODUCCIÓN DE GAS (ML) A PARTIR DE LOS DIFERENTES FORRAJES	34

5.2.1.	Relación entre la composición nutricional de los forrajes y la producción de gas a las 24 h.....	34
5.2.2.	Producción de gas (ml) a las 24 h de incubación de los diferentes alimentos.....	36
5.2.3.	Energía metabolizable de los diferentes forrajes con la metodología de producción de gas.....	41
5.2.4.	Desarrollo de ecuaciones de regresión para estimar el valor energético a partir de la técnica de producción de gas.....	46
5.3.	ANÁLISIS DE CORRELACIÓN ENTRE LA EM OBTENIDA DE LA METODOLOGÍA DE PRODUCCIÓN DE GAS Y LA ECUACIÓN DEL NRC	46
5.4.	ECUACIÓN DE MEJOR AJUSTE	50
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54
7.	LITERATURA CITADA.....	55
8.	ANEXOS	64

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Contenido de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (EN _L) y energía neta de ganancia (EN _G) de forrajes en Costa Rica.....	8
2. Composición nutricional en promedio de los diferentes forrajes.	19
3. Composición nutricional de los diferentes ensilajes y subproductos.	21
4. Contenido de energía metabolizable (EM) determinada mediante la ecuación del NRC (2001) de los diferentes forrajes.....	30
5. Análisis de varianza según contenido de lignina, FDN y la EM (NRC 2001).....	33
6. Coeficientes de correlación entre los constituyentes químicos y la EM (NRC 2001).....	33
7. Contenido de energía metabolizable (EM) determinada mediante la ecuación del NRC (2001) de los diferentes ensilajes y subproductos.	34
8. Análisis de varianza según el contenido de FDN y PG24h..	35
9. Producción de gas acumulada de diferentes forrajes cuando se incubaron a las 12 y 24 h con licor ruminal.	37
10. Producción de gas de los diferentes grupos según el contenido de FDN.	38
11. Producción de gas acumulada de diferentes ensilajes y subproductos cuando se incubaron a las 12 y 24 h con licor ruminal.....	41
12. Contenidos de energía metabolizable calculados con la metodología de producción de gas.....	42
13. Energía metabolizable de los diferentes grupos según el contenido de FDN. ..	44
14. Energía metabolizable de los ensilajes y subproducto con la metodología de producción de gas.....	45
15. Ecuaciones para estimar el valor energético de forrajes, ensilajes y subproductos a partir de diferentes variables.	46
16. Análisis de correlación lineal entre la ecuación del NRC (1989) y la técnica de producción de gas.....	47
17. Análisis de correlación lineal entre la ecuación del NRC (2001) y la técnica de producción de gas.....	48
18. Componentes nutricionales utilizados en las diferentes ecuaciones para estimar el contenido de energía metabolizable a partir de la PG.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Distribución de la energía en los procesos metabólicos (Adaptado de Sánchez y Soto 1999).	5
2. Análisis de regresión entre la EM obtenida mediante la ecuación del NRC (2001) y el porcentaje de FDN.	32
3. Análisis de regresión entre el porcentaje de FDN y la producción de gas a las 24 h.....	35
4. Producción acumulada de gas in vitro a las 24 h de los nueve forrajes con mayor producción de gas.....	36
5. Producción acumulada de gas in vitro a las 24 h de los nueve forrajes con menor producción de gas.	38
6. Producción acumulada de gas de los diferentes ensilajes y del subproducto de piña a las 24 h.....	40
7. Análisis de regresión entre la ecuación 2a y la del NRC (2001).....	52
8. Análisis de regresión entre la ecuación de Seker (2001) y la del NRC (2001)..	53

INDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
1. Composición nutricional de los diferentes forrajes.	64
2. Contenido de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (ENL) y energía neta de ganancia (ENG) de forrajes.	66
3. Contenido de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (ENL) y energía neta de ganancia (ENG) de ensilajes.	69

RESUMEN

El objetivo principal de este estudio fue realizar un análisis de correlación y regresión entre la energía metabolizable de diferentes alimentos utilizados en Costa Rica a través de la ecuación del NRC (2001) y las diferentes ecuaciones utilizadas en la metodología de producción de gas *in vitro* a las 24 horas de incubación (PG24h), esto con el fin de determinar la presencia de una correlación alta entre la técnica del NRC (2001) y alguna ecuación de la técnica de producción de gas *in vitro*. Los forrajes, ensilajes y el subproducto de piña se encontraban muestreados al inicio del experimento, su composición química, bromatológica y la producción de gas se analizaron en el Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA). El forraje con mayor y menor energía metabolizable obtenida a partir de la metodología del NRC (2001) fue el ryegrass y el pasto camerún, con 2,59 y 1,79 Mcal/kg de MS, respectivamente. De acuerdo a la ecuación del NRC (2001) se determinó que la fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina influyen negativamente en la concentración de energía ($R^2 = \text{FDN}, -0,56; \text{FDA}, -0,54; \text{lignina}, -0,35; p < 0,05$), mientras que la proteína cruda (PC) y el extracto etéreo (EE) tienen una correlación positiva. Se derivó una ecuación (2a) a partir de los valores de energía logrados por la ecuación del NRC (2001) y los diferentes componentes de los forrajes. La ecuación con el coeficiente de regresión más alto ($R^2 = 0,72$) considera las variables de producción de gas a las 24 h, proteína cruda, fibra detergente neutro y lignina. La ecuación que mejor se ajustó a la del NRC (2001) fue la ecuación 2a, obtenida en este estudio, con un coeficiente de correlación de 0,82, ($p < 0,05$) y de regresión de 0,68. Las ecuaciones de Menke et al. (1979) y Seker (2000) presentaron correlaciones de 0,77 y 0,80 ($p < 0,05$), respectivamente, siendo las tres ecuaciones que mejor se ajustan respecto a la del NRC (2001). La producción de gas no se ve afectada por la concentración de PC, cenizas y EE ($p < 0,05$), pero si se ve afectada negativamente por la FDN, FDA y la lignina, con un coeficiente de correlación de -0,44, -0,32 y -0,33 ($p < 0,05$) respectivamente. El forraje con mayor PG24h fue la caña de azúcar, seguido de forrajes como el festulolium y ryegrass, mientras que el pasto camerún y la cratylia tuvieron valores menores. El ryegrass y camerún fueron los forrajes con mayor y menor energía respectivamente, con las ecuaciones de Menke et al. (1979), Seker (2002) y

2a. Las fracciones fibrosas se correlacionaron negativamente con la energía determinada mediante la ecuación 2a, mientras que la PC y EE presentan una relación positiva.

1. INTRODUCCIÓN

Conocer la composición químico-bromatológica y la digestibilidad de los alimentos es imprescindible para la producción animal, ya que estos factores van a influir en el consumo de alimentos y en el aprovechamiento por parte del animal, afectando su desempeño productivo (Oliveira et al. 2014).

En la alimentación animal, la energía es el nutriente que más limita el desempeño productivo; es por esta razón que los requerimientos y su disponibilidad en los alimentos son de importancia para los nutricionistas (Rocha et al. 2003). Costa Rica al ser un país tropical, cuenta con gran variedad de forrajes que son utilizados en la alimentación animal, por esta razón es importante evaluar su calidad nutricional, con procedimientos que sean sencillos, económicos, precisos y que den el resultado en el menor tiempo posible.

La energía que es utilizada por los animales la obtienen a partir de los procesos digestivos y metabólicos de los alimentos; empleada en procesos de mantenimiento como termorregulación, actividad cardíaca, consumo de alimentos, entre otros. Al satisfacer los requerimientos de mantenimiento, el restante de la energía se aprovecha en actividades productivas como la síntesis de tejidos, proteínas, grasas o producción de leche (Cuartas et al. 2013).

Los pastos en crecimiento contienen cantidades de proteína que exceden los requerimientos de los animales, sin embargo, su contenido de energía es una limitante en la producción de leche o ganancia de peso (Salazar 2007), por lo que si las dietas son deficientes en energía su respuesta a nivel productivo y reproductivo es pobre (Andrade 2006).

En los sistemas de producción en pastoreo, el contenido de energía de los forrajes tropicales es un componente crítico del sistema, debido al bajo contenido energético del material, y el gasto energético destinado a caminar en el potrero (Villalobos y Sánchez 2010).

La mejor manera de conocer el valor energético de los alimentos en rumiantes, es mediante ensayos “*in vivo*” pues se consideran las mediciones más exactas y adecuadas para tal fin, pero su implementación es laboriosa y costosa, demanda gran cantidad de alimento, animales fistulados y disposición de instalaciones para su cuidado. Por esta razón, es importante la utilización de metodologías *in vitro* para las estimaciones de la calidad nutricional de los alimentos (Giraldo et al. 2006).

Existen maneras de predecir la energía a partir de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y/o la composición química de los alimentos, expresada en nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), y/o energía neta (EN) (Rosendo et al. 2013).

A partir de ensayos *in vivo* se han desarrollado ecuaciones empíricas que utilizan componentes químicos de los alimentos, ya sean univariados o multicomponentes. El Consejo Nacional de Investigación (NRC 2001) propone un modelo mecanicista sumativo, que realiza la estimación a partir del contenido de las fracciones del alimento y la digestibilidad de cada una de ellas (Larguero 2011).

Existe también la metodología de producción de gas *in vitro* que se ha utilizado para medir la degradación ruminal de los alimentos; esta técnica es un indicador del consumo de la materia seca digestible y tiene el potencial para evaluar la energía de varias clases de alimentos utilizados en la alimentación animal (Bakhashwain et al. 2010).

El objetivo de esta investigación es realizar un análisis de correlación y regresión de los valores energéticos *in vitro* de forrajes obtenidos mediante la ecuación del Consejo Nacional de Investigación (NRC 2001) y la metodología de producción de gas; ya que existe la necesidad de predecir la energía de forrajes utilizando metodologías con menores costos económicos asociados y que tengan un grado de precisión aceptable.

2. OBJETIVOS

a. General:

Realizar un análisis de correlación y regresión entre los valores energéticos *in vitro* de forrajes obtenidos mediante la ecuación del Consejo Nacional de Investigación (NRC 2001) y la metodología de producción de gas.

b. Específicos:

1. Determinar el contenido energético (NDT, ED, EM, EN_M, EN_G y EN_L) de forrajes y ensilajes con la metodología de NRC (2001).
2. Estimar el contenido energético (EM) de forrajes y ensilajes con la técnica de producción de gas.
3. Ejecutar un análisis de correlación y regresión entre los valores de energía obtenidos a partir de las metodologías de producción de gas y la ecuación del NRC (2001).
4. Escoger el modelo de mejor ajuste con respecto a la ecuación sumativa del NRC (2001).

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. La Energía en la Nutrición Animal

Según el NRC (1996) la energía es definida como el potencial para realizar trabajo y solo puede ser medida con referencias definidas y condiciones estandarizadas, donde todas las unidades son definidas de igual manera. Sánchez y Soto (1999) detallan que la energía que se libera de los alimentos consumidos por los animales es utilizada para mantener la temperatura corporal, el crecimiento, la actividad, la producción y la reproducción.

El julio es la unidad preferida para expresar la energía eléctrica, mecánica y química. El julio puede ser convertido a ergios, vatios y calorías; la unidad caloría se ha estandarizado para igualar 4,184 julios y es aproximadamente igual al calor necesario para elevar la temperatura de 1 g de agua de 16,5°C a 17,5°C (NRC 1996).

En la práctica la caloría es una pequeña cantidad de energía, por lo que la kilocaloría (1 Kcal= 1000 calorías) y la megacaloría (1 Mcal= 1000 Kcal) son más convenientes para usar en la alimentación animal (NRC 1996). La energía se considera como el nutriente más limitante en los sistemas de alimentación, por lo cual es fundamental la valoración energética de los alimentos que se usan en las dietas de los animales, con el fin de prevenir el déficit alimentario, solucionar cualquier problema y maximizar la productividad de los animales (León et al. 2012).

Cuantificar la cantidad total de energía de los alimentos (energía bruta) es relativamente simple, con el uso de una bomba calorimétrica se obtendría el valor, sin embargo, existe una variabilidad en la digestibilidad y en el metabolismo de los animales que impide el uso de la energía bruta para la formulación de dietas o la comparación entre materias primas (Weiss 1993).

El valor energético de los alimentos puede ser expresado de diversas maneras, desde la energía bruta (EB), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM) y energía neta (EN) (Mendoza-Martínez et al. 2008), hasta los nutrientes digestibles totales (NDT); este último es similar a la ED. Los NDT incluyen una corrección para la

digestibilidad de la proteína, pero no presenta ventajas o desventajas sobre la energía digestible como unidad que describe el valor de los alimentos o para expresar los requerimientos de energía del animal (1 kg de NDT equivale a 4,4 Mcal de ED) (NRC 1996). En la figura 1 se muestra el fraccionamiento de la energía.

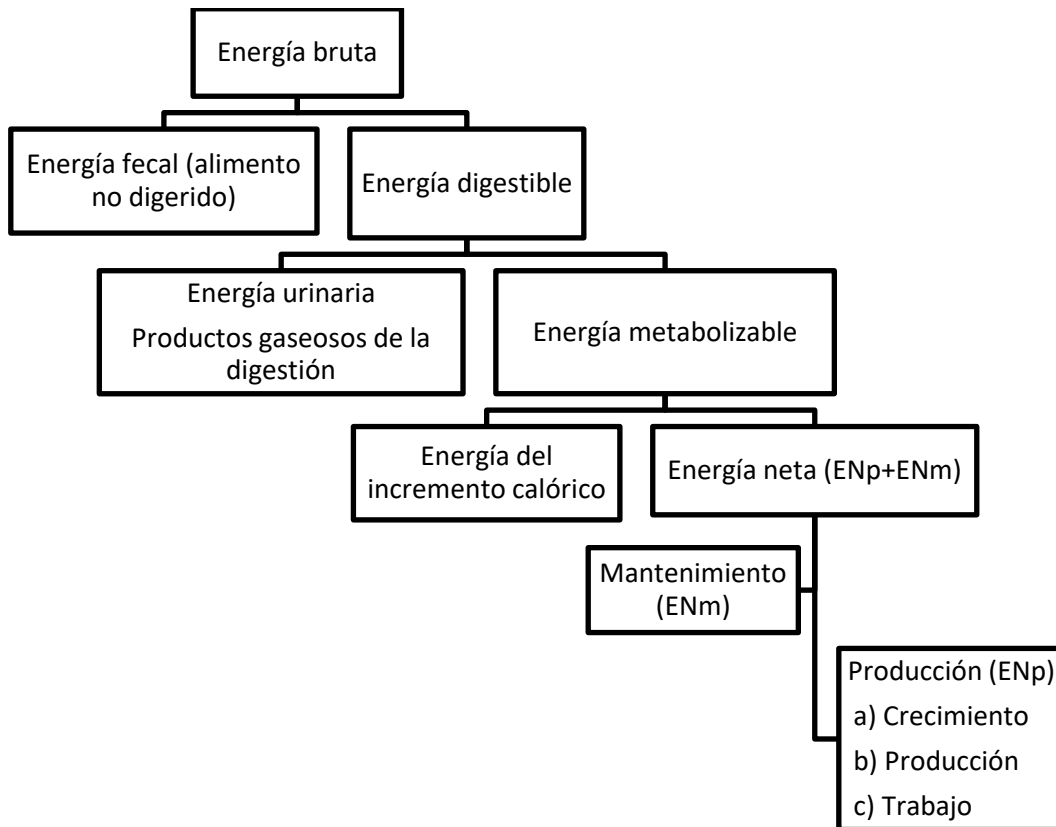


Figura 1. Distribución de la energía en los procesos metabólicos (Adaptado de Sánchez y Soto 1999).

La cantidad de NDT que son absorbidos por el animal en la dieta es uno de los factores que pueden influir en la respuesta de la producción animal (Oliveira et al. 2014). La energía metabolizable es definida como la energía bruta menos las pérdidas de energía fecal (EF), energía urinaria (EU) y energía gaseosa (EG); la EM es una estimación de la energía disponible para el animal y representa una progresión contable para evaluar los valores de energía de los alimentos y los requerimientos del animal (NRC 1996).

Como se indica en la figura 1, la energía neta representa la fracción de la EB que puede ser destinada por parte del animal para mantenimiento corporal y propósitos productivos (Flores 2004).

La predicción del contenido nutricional de los alimentos mediante experimentos *in vivo* es demandante de tiempo y laborioso, representa un alto costo y requiere grandes cantidades de muestras de alimentos, de manera que se han desarrollado técnicas *in situ* o *in vitro*, para predecir la degradación ruminal (Abaş et al. 2005).

Las técnicas *in situ* e *in vitro* son métodos alternativos para predecir la degradabilidad de los alimentos de forma rápida, permitiendo la utilización de menor cantidad de alimento, así como la evaluación de diferentes alimentos al mismo tiempo. La metodología *in situ* presenta el inconveniente de que existe una falta de estandarización, por lo que existen diferencias en los resultados entre laboratorios, incluso cuando se utilizan las mismas condiciones de evaluación (Oliveira et al. 2014).

Uno de los métodos más utilizados para estimar el contenido energético de los alimentos, es la utilización de ecuaciones de predicción basadas en la composición química y/o en evaluaciones biológicas; entre esas ecuaciones de predicción se encuentra la desarrollada por Weiss et al. (1992), en la que desarrolló un modelo mecanístico para predecir el valor de energía (Bruni et al. 2014). El modelo desarrollado por Weiss et al. (1992) utiliza los NDT para predecir el contenido energético.

También se han realizado ecuaciones empíricas tomando en cuenta la fibra detergente ácida (FDA); que presentan errores de precisión en la predicción de 2 a 8 unidades porcentuales de NDT (Lundberg et al. 2004).

En Europa, utilizan ecuaciones de predicción donde se relacionan uno o más componentes químicos y/o el valor energético *in vitro* de los alimentos, mientras en Norte América, utilizan métodos sumativos que determinan la contribución de energía de cada componente químico para el contenido total de energía de los alimentos (Robinson et al. 2004a).

Muchas técnicas *in vitro* que se utilizan para determinar el contenido nutricional de forrajes varían en su precisión, pero las que simulan un ambiente ruminal, con microorganismos ruminales son las que ofrecen los mejores resultados (Cerrillo et al. 2012).

La técnica de producción de gas simula de buena manera el ambiente ruminal, Evtayani et al. (2004) mencionan que esta técnica se ha expandido rápidamente, debido a la necesidad de contar con métodos de rutina y reproducibles para obtener la biodisponibilidad de los alimentos y su composición química.

3.2. Contenido de energía en forrajes tropicales

Sánchez y Soto (1999) mencionan que entre el 70 y 85% de la materia seca (MS) que consume un animal es utilizada para generar energía; los procesos digestivos y metabólicos a los que se someten los carbohidratos, proteínas y lípidos en los alimentos liberan la energía y la hacen disponible para el animal.

Al utilizar el programa de evaluación de sistemas de alimentación del NRC (2001), se evidencia que la energía en su forma de carbohidratos fácilmente disponibles en el rumen, es el primer nutrimento limitante para la nutrición; debido al bajo contenido de estos en los forrajes y pastos tropicales, el cual limita la producción (Sánchez 2007).

Las gramíneas C₄ del subtrópico y trópico tienen menor potencial para producir leche que las especies C₃ de clima templado, esto debido a que los animales consumen menos energía digestible, ya que los pastos C₄ contienen mayor fibra detergente neutro y lignina (adaptación para protegerse de depredadores, plagas y enfermedades), lo que hace que los animales consuman menos materia seca y que exista menor cantidad de energía por kilogramo de materia seca consumido (Villalobos y Sánchez 2010).

Además, el estado de madurez de la planta influye sobre el aporte de energía disponible para el animal, debido a que conforme se aumenta la edad de la pastura, el

proceso de lignificación se incrementa, reduciendo la degradación de la hemicelulosa y celulosa en el rumen y por tanto la digestibilidad del pasto (Salazar 2007).

Villalobos (2006) evidenció que pastos con una edad fenológica y período de recuperación menor presentan características de un pasto más tierno (más digestible) y con mayor aporte de energía; inversamente el forraje va a contener menos materia seca y fibra, lo que podría comprometer la salud ruminal del animal por un bajo aporte de fibra en la ración.

El aporte energético de los forrajes proviene principalmente de la celulosa y hemicelulosa de la pared celular; y de los azúcares y almidones (carbohidratos no fibrosos) del contenido celular (Sánchez 2007). En el cuadro 1 se muestran algunos valores de nutrientes digestibles totales, energía digestible, energía metabolizable, energía neta de lactancia y de ganancia obtenidos utilizando la ecuación propuesta por Weiss et al. (1992) de forrajes analizados en Costa Rica.

Cuadro 1. Contenido de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (EN_L) y energía neta de ganancia (EN_G) de forrajes en Costa Rica.

Forraje	%	Mcal / Kg de MS				
		NDT	ED	EM	EN _L	EN _G
Estrella africana ^a	54,10		2,39	2,00	1,23	-
Estrella africana ^a	53,60		2,36	1,99	1,22	-
Estrella africana ^b	-		2,20-2,60	-	1,10-1,30	-
Estrella africana ^b	51,15		2,42	1,98	1,20	0,57
Kikuyo ^b	-		2,80-3,00	-	1,30-1,40	-
Kikuyo ^a	56,70		2,50	2,13	1,30	-
Kikuyo ^c	63,72		2,98	2,37	1,48	0,96
Kikuyo ^d	56,96		2,61	2,08	1,27	0,71
Brizantha ^b	-		2,40-2,60	-	1,20-1,30	-
Toledo ^b	-		2,40-2,70	-	1,20-1,30	-
Guinea ^b	-		2,30	-	1,20	-
Camerún ^b	-		2,20	-	1,10	-
Cratylia ^b	-		2,20	-	1,10	-
Ryegrass ^e	61,95		2,92	2,45	1,53	0,92

^a Sánchez y Soto (1999); ^b Sánchez (2007); ^c Andrade (2006); ^d Peters (2008); ^e Villalobos (2006).

3.3. Métodos de predicción de energía

3.3.1. Modelo del National Research Council (NRC 2001)

Conrad et al. (1984) utilizaron las leyes de la física para unir dos metodologías empleadas en el análisis de los alimentos, la primera fue el análisis de la fibra empleando detergentes (Van Soest 1967) y la segunda la determinación de la energía neta de lactancia; lo que permitió desarrollar una ecuación sumativa para calcular la ENL a partir de los componentes químicos del alimento (Sánchez y Soto 1999).

La ecuación sumativa de Conrad et al. (1984) se derivó de gran variedad de alimentos para ganado en el que se incluían forrajes tropicales y subtropicales como *Paspalum notatum*, *Cynodon dactylon* y *Sorghum bicolor sudanense*. Más tarde, Weiss et al. (1992) modificaron la ecuación para mejorar su capacidad de estimación; por lo que fue probada en 248 alimentos como forrajes (incluidos forrajes tropicales), granos y subproductos, presentando un error de nutrientes digestibles totales de 61 g/kg de MS, obteniendo un error similar a estudios de digestibilidad *in vivo* (Sánchez y Soto 1999).

La ecuación desarrollada por Weiss et al. (1992), que más tarde fue adaptada por el NRC (2001) en la tabla de requerimientos nutricionales de ganado lechero, calculada con cada fracción digestible del alimento (Rosendo et al. 2013), incorpora en el modelo los coeficientes de digestión teóricos para la proteína cruda, extracto etéreo, fibra detergente neutro y carbohidratos no-fibrosos.

Este es un modelo mecanicista, que utiliza una ecuación sumativa de todos los parámetros químicos del alimento que aportan energía, en este modelo están representadas varias fuentes de variación y se pueden utilizar en la mayoría de los alimentos (Larguero 2011), además se utilizan los nutrientes digestibles totales como unidad de expresión del contenido energético (Posada et al. 2012).

Esta ecuación al ser sumativa es más precisa que las que solo utilizan fracciones de la fibra, pero es una metodología más larga y costosa (Ball et al. 2001). Algunos investigadores prefieren esta metodología, pero en lugar de incluir

coeficientes teóricos de digestión, estiman las digestibilidades verdaderas de los nutrientes a través de ensayos biológicos, ya que presentan mayores similitudes con las mediciones *in vivo* (Bruni et al. 2014).

Rocha et al. (2003) en una investigación realizada en Brasil encontraron que esta ecuación subestima el aporte energético aportado por la digestibilidad de la fibra detergente neutro y el extracto etéreo en alimentos voluminosos.

Robinson et al. (2004b) indican que durante mucho tiempo se ha reconocido como componentes claves que determinan el valor de energía de los alimentos el contenido de grasa (debido a la alta densidad energética); el contenido de carbohidratos no fibrosos (por su alta digestibilidad); y el contenido y digestibilidad de los carbohidratos fibrosos (por su alto valor en algunos alimentos como los forrajes). A continuación, se detallan componentes claves en la estimación de la energía con la ecuación del NRC (2001).

- **Carbohidratos no estructurales**

Según el NRC (2001) los carbohidratos no estructurales se encuentran dentro de las células de la planta. Este componente está constituido por los azúcares, almidones, ácidos orgánicos y otros carbohidratos de reserva como los fructosanos. Los carbohidratos no estructurales y carbohidratos no fibrosos son considerados fracciones distintas, pues para muchos alimentos la concentración de ambos carbohidratos es distinta, esta diferencia es atribuida a la contribución de las pectinas y ácidos orgánicos (la pectina se incluye como un carbohidrato no fibroso)

Forrajes con mayor contenido de carbohidratos solubles se asocian con mayor cantidad de energía y una mayor respuesta por parte del animal (Romero 2008), de igual manera indica el NRC (2001) que los carbohidratos no estructurales son la principal fuente de energía en ganados lecheros de alta producción y junto con las pectinas son componentes altamente digeribles.

- **Proteína cruda**

La proteína cruda de los forrajes está representada por la proteína verdadera y el nitrógeno no proteico (NNP), la proteína verdadera puede representar un 70% en forrajes verdes, en henos 60% y valores menores en los ensilajes. Existe parte del NNP que es insoluble, ya que se encuentra ligado a la lignina, por lo que es de baja disponibilidad en el proceso digestivo de los animales. Las gramíneas contienen menor valor de proteína cruda que las leguminosas, por lo que es un componente que va a variar según la especie (Nascimento 1997).

- **Extracto etéreo**

Los lípidos se encuentran principalmente en hojas y semillas de las plantas, en las hojas se encuentran los fosfolípidos y galactolípidos y en las semillas se encuentran los triglicéridos. La mayoría de los lípidos vegetales son insaturados, siendo el lípido predominante en las hojas el ácido linolénico (18: 3n-6) (Oliveira 2011).

La variabilidad en el contenido de energía neta de lactancia entre los suplementos de grasa está en función del largo de la cadena de ácidos grasos y la digestibilidad de esa cadena; la digestibilidad de los ácidos grasos va a repercutir en el consumo de materia seca (NRC 2001).

- **Fibra detergente neutro**

El contenido de pared celular en los forrajes se encuentra diferenciado por la anatomía, una de ellas es la proporción que ocupa los haces vasculares dentro de la hoja. Las gramíneas tropicales (C4) poseen mayor superficie de haces vasculares en las hojas, rodeadas por una envoltura doble de células con paredes celulares gruesas, como consecuencia la degradabilidad es menor ya que funciona como una barrera protectora de la digestión de los haces vasculares. Caso contrario ocurre con las leguminosas y las gramíneas de zona templada que presentan menor proporción de haces vasculares, siendo fácilmente degradadas (Romero 2008).

Otra diferencia anatómica es el tejido mesófilo de las hojas, las plantas C4 presentan una relación de superficie mesófilo:haces vasculares entre 1,8 a 3,7:1, mientras que en las C3 la relación es de 8:1. Debido a esto, las gramíneas tropicales presentan mayor pared celular, hemicelulosa y lignina, mientras que el contenido de celulosa es similar entre las gramíneas C3 y C4 (Romero 2008).

3.3.1.1. Modelo NRC (1989) versus NRC (2001)

El modelo del NRC (1989) se le reconocen varios problemas: los valores tabulados existentes son apropiados únicamente para alimentos similares a los utilizados en los ensayos de digestibilidad; el valor de NDT para muchos alimentos no se puede medir directamente. Las ecuaciones para convertir de NDT a EM y EN_L se derivan de ensayos de dietas completas, por lo que para muchos alimentos los valores de NDT se encuentran fuera del rango de NDT de las dietas experimentales (Correa 2001).

Por estas razones, el NRC (2001) presenta los valores de NDT calculados a partir de la composición química de los alimentos en lugar de calcularlos experimentalmente. La EN_L se determina a partir del consumo real y en la digestibilidad total de la dieta, la ecuación del NRC (1989) se realizaba un descuento constante del 8% en la reducción de la digestibilidad a 3x el mantenimiento, asumiendo que todas las vacas consumen a tres veces el consumo de mantenimiento. Basado en la distribución normal de producción de leche de un hato, el consumo promedio de energía se encuentra en el rango de 2 a 4x el mantenimiento (NRC 2001), por lo tanto, cuando el consumo aumenta en los animales la digestibilidad de los alimentos disminuye (Hoffman et al. 2014).

Para calcular la ED en el NRC (1989) se asume una constante de 4,409 Mcal/kg de NDT, por lo que los NDT se multiplican por ese valor, en la edición actual se calcula multiplicando el contenido estimado de nutrientes digestibles por sus calores de combustión haciendo una corrección por la energía metabólica fecal. También, a medida que se incrementa el consumo de alimento se reduce la digestibilidad del mismo, por lo que se incluye una ecuación empírica para descontar la disminución en

la digestibilidad por el consumo de materia seca. El NRC (1989) considera una disminución constante del 4% para consumos de tres veces el mantenimiento) (Correa 2001).

Para determinar la EM a partir de la ED se utiliza la misma ecuación en las dos ediciones, pero en la del NRC (2001) se realiza una corrección que genera un incremento en 0,0046% por cada unidad de incremento en el valor de EE por encima de 3%, lo que conlleva a incrementar el valor de EM en alimentos altos en EE (Correa 2001).

Para la conversión de EM a EN_L utiliza una ecuación derivada en 1972, que hace la estimación para alimentos con menos de 3% de grasa, y una ecuación diferente se utiliza para alimentos con más de 3% de grasa (Correa 2001).

3.3.2. Producción de gas

Rymer et al. (2005) señala que quienes propusieron y desarrollaron el principio para la determinación de la degradación/fermentación ruminal potencial de los alimentos, por la medición del gas producido en cultivos en serie, fueron McBee (1953) y Hungate (1966). Posteriormente se realizaron diversas adaptaciones, como la realizada por Trie et al. (1970), Jouany y Thivend (1986), Beuvink y Spoelstra (1992) y Beuvink et al. (1992), por lo que a través del tiempo se han hecho varias modificaciones a la metodología (Giraldo et al. 2006).

La técnica de producción de gas *in vitro* consiste en la incubación de alimentos en frascos con licor ruminal. Para la determinación del volumen de gas se puede utilizar una jeringa de plástico graduada, que se desplaza conforme ocurre la fermentación del alimento y la liberación del gas (Oliveira et al. 2014).

El gas producido en la fermentación ruminal es derivada de la fermentación de los carbohidratos, como el almidón y celulosa; la digestión anaerobia produce ácidos grasos volátiles (AGV), succinato, formato, lactato, etanol, dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) y trazas de hidrógeno (H₂). La producción de gas por parte de la fermentación de la proteína y de la grasa es muy pequeña (Posada y Noguera 2005).

La técnica indica indirectamente la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales son la principal fuente de energía para los rumiantes y responsables del 50 al 70% de la energía digestible del alimento (Oliveira et al. 2014).

Abaş et al. (2005) señalaron que varios investigadores demostraron una correlación significativa entre la energía obtenida por prueba de gas *in vitro* y ensayos *in vivo*, por consecuencia sugieren que el método de producción de gas *in vitro* puede ser utilizado para evaluar los valores energéticos y las características de fermentación ruminal de los alimentos.

Menke et al. (1979) realizaron una investigación en la que utilizaron 200 mg de alimento a base de materia seca y determinaciones de la producción de gas a 24 h. Mediante un análisis de regresión múltiple obtuvieron una ecuación para la predicción de energía metabolizable ($R=0,98$), basado en 30 experimentos que varían en el contenido de proteína cruda y fibra cruda, y otros 59 experimentos con alimentos concentrados.

Se indica que el método es útil para predecir la degradabilidad ruminal de forrajes, por lo que varios autores explicaron que la producción de gas a 24 h estaba bien relacionada con la energía metabolizable y la digestibilidad de la materia orgánica *in vivo* (León et al. 2012). Además, la producción de gas *in vitro* se relaciona linealmente con la desaparición de la fibra detergente neutro (FDN), del almidón y la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica (Cerrillo et al. 2012).

La técnica presenta la ventaja de simular la cinética de degradación ruminal, la cual permite valorar la producción acumulativa de los gases producto de la fermentación con microorganismos ruminales y un medio de cultivo (Giraldo et al. 2006). Posada y Noguera (2005) añaden que la técnica tiene la ventaja de que garantiza el bienestar animal, además de necesitar poca muestra para el análisis lo que repercute en un menor costo económico.

Al requerir poca cantidad de muestra, permite la evaluación de un mayor número de muestras simultáneamente, lo que permite obtener múltiples observaciones

en poco tiempo demostrando buena correlación con métodos *in vivo* e *in situ* (Oliveira et al. 2014).

Posada y Noguera (2005) muestran que la técnica presenta las ventajas dadas por el bienestar animal, el tamaño de la muestra, el costo y la descripción de la cinética de fermentación, pero indica que existe la desventaja de falta de uniformidad en las metodologías.

3.3.2.1. Factores determinantes en la técnica

Existen ciertos factores que determinan la viabilidad de la metodología, entre ellas se puede mencionar la molienda del sustrato a incubar, el tamaño de la muestra, el fluido ruminal, el medio en el que se va a colocar la muestra, el tipo de sustrato y el pH del medio. A continuación, se describirán factores determinantes en la producción de gas.

- **Tamaño de la muestra**

La cantidad de muestra para la inoculación es relativamente pequeña, va desde 0,1 a 1,0 g (Posada y Noguera 2005), por su parte Menke y Steingass (1988) indican que el tamaño de la muestra va a depender de la cantidad de gas que se quiera obtener, si la muestra es de fácil digestión se podría utilizar no más de 200 mg de materia seca, pero si el material es de baja digestibilidad, se podría utilizar hasta 300 mg.

- **Molienda de la muestra**

Al realizar una molienda con una longitud de partícula fina aumentaría el área de superficie para la degradación ruminal. Posada y Noguera (2005) indican que la molienda debe de realizarse a través de una malla de 1,0 mm (Posada y Noguera 2005).

Como se indicó anteriormente, alimentos muy finos presentan mayor área superficial para la adherencia de los microorganismos, favoreciendo la fermentación inicial del sustrato y contribuyendo a mayor producción de gas, lo que alteraría la

relación de las tasas de producción de gas de las fracciones de rápida y lenta degradación (Silveira 2006).

El mismo autor explica que muestras con un tamaño de partícula mayor pueden presentar una baja producción de gas debido al agotamiento de la capacidad tampón y a la baja proporción de microorganismos por sustrato.

- **pH del medio**

Los microorganismos que se encuentran en el fluido ruminal son muy sensibles a cambios en el pH, por lo que las bacterias prefieren un rango de pH entre 6,5 y 6,8; además existen diferencias entre las bacterias que habitan el rumen, ya que las bacterias celulolíticas son más sensibles a un pH bajo que las bacterias amilolíticas (Posada y Noguera 2005).

- **Dieta del donador del licor ruminal**

Menke y Steingass (1988) indican que los animales donadores del licor ruminal deben ser alimentados con la misma ración durante un tiempo establecido antes de tomar el licor, también recalcan que la ración debe estar constituida entre 50 a 60% de forrajes y 40 a 50% de concentrados y estar dividido en dos porciones. Borba et al. (2000) indican que existe una relación inversa entre la producción de gas y el porcentaje de proteína que contiene la dieta del animal donador, por lo que un aspecto importante a considerar en el fluido ruminal.

El licor ruminal de vacas con un rendimiento bajo o medio de leche se puede utilizar, pero esto afecta a la calidad y estabilidad del licor debido al bajo consumo de alimentos y a la baja velocidad de paso (Menke y Steingass 1988).

- **Control de la temperatura**

El fin de la técnica es simular con la mayor precisión el comportamiento del rumen en el animal, por lo que la temperatura debe ser de 39°C, así la actividad microbiana, el volumen del gas y las presiones no se ven afectadas por esta variable

(Posada y Noguera 2005). Se dice que un periodo corto en el descenso de la temperatura tiene menor efecto sobre la producción de gas que un sobrecalentamiento que podría dañar selectivamente la actividad microbiana (Menke y Steingass 1988).

- **Agitación**

Debido a que el rumen tiene ciclos de contracción, la agitación es un factor importante para la simulación de las condiciones *in vitro* del rumen. Además, el CO₂ presenta la tendencia a formar soluciones supersaturadas en medio acuoso, por lo que si esto ocurre los valores indicados serán incorrectos, para evitar esta situación se puede realizar una suave agitación ocasional (Schofield 2000).

- **Obtención del inóculo**

La hora a la que se recolecta el licor ruminal tiene que ver mucho con la hora en que se alimentó el animal el donador, el licor es menos activo después del ayuno que el licor colectado dos horas después de alimentarse, pero tiene la diferencia de que es más consistente en su composición y actividad. Se recomienda que la toma del licor se haga de tres animales distintos consumiendo la misma dieta y antes de la alimentación (Williams 2000). Si el fluido ruminal es tomado en diferentes días, se debe de realizar un ajuste con la introducción de estándares de conocida producción de gas (Getachew et al. 1998).

Bajo este panorama la relevancia que tiene la energía en los sistemas productivos ganaderos de Costa Rica, conllevan a utilizar modelos para predecir la energía, que sean viables y presenten una alta correlación con metodologías *in vivo*, como lo es la ecuación del NRC (2001) y ecuaciones basadas en la técnica de producción de gas, además de lograr información de diferentes forrajes del país.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en el Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA), de la Universidad de Costa Rica, entre los meses de julio y diciembre del año 2015. Se utilizó dos metodologías para predecir la energía en diferentes alimentos: la ecuación sumativa del NRC (2001) y ecuaciones a partir de la producción acumulada de gas *in vitro*.

4.1. Unidad de estudio

Se determinó la energía de los siguientes forrajes, que ya se encontraban muestreados al inicio del proyecto: *Panicum maximum* (guinea), *Ischaemum ciliare* (ratana), *Cynodon nlemfuensis* (estrella africana), *Brachiaria plantaginea* (braquipará), *Cratylia argentea* (cratylia), *Brachiaria brizantha* (brizantha), *Morus alba* (morera), *Pennisetum purpureum* (camerún), *Brachiaria brizantha* var Toledo, *Kikuyuocloa clandestina* (kikuyo), *Lolium perenne* (ryegrass), *Tithonia diversifolia* (botón de oro), *Saccharum officinarum* (caña de azúcar), *Brachiaria híbrido* (mulato), *Festulolium* spp (festulolium), *Hemarthria altissima* (pasto limpo), *Panicum máximo* cv. Mombaza.

También se realizó la predicción de energía de ensilajes de: pasto maralfalfa (*Pennisetum violaceum*) con melaza, pasto maralfalfa + 15% guineo cuadrado (*Musa* sp.), 30% guineo cuadrado y 45% guineo cuadrado, de cratylia, de sorgo (*Sorghum vulgare*), de sorgo más pulpa de piña, y además de un subproducto de piña (rastrojo).

4.2. Análisis químico y bromatológico

Los análisis bromatológicos de FDN, FDA y lignina se realizaron según el método de referencia AOAC 2002,04, AOAC 973.18 y AOAC 973.18, respectivamente. La determinación de nitrógeno en fibra detergente neutro (NFDN) y en fibra detergente ácido (NFDA) se realizó con la metodología desarrollada por Licitra et al. (1996). Los análisis químicos como proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE) y cenizas se efectuaron según el método de referencia AOAC 2001,11; 920.39 y 942.05 respectivamente, todos estos en el AOAC (1998). En el Cuadro 2 y 3 se encuentra la composición nutricional de los diferentes alimentos utilizados en la investigación.

Cuadro 2. Composición nutricional en promedio de los diferentes forrajes (en base seca).

Forraje (n)	Edad*	MS %	PC	EE	FDN	FDA	NFDN	NFDA	Cenizas	L
	Días									
Guinea (2)	30	24,50	9,03	2,45	70,10	37,50	0,56	0,13	9,39	2,45
Ratana (4)	20-21	18,97	12,20	2,60	63,68	34,40	1,02	0,19	9,55	2,30
Estrella africana (4)	24-35	24,38	16,65	3,32	65,48	29,12	0,88	0,16	9,84	2,23
Braquipará (5)	24-33	17,22	13,29	3,56	61,86	31,72	0,89	0,16	10,40	2,20
Brizantha (2)	26	27,10	9,54	2,85	68,20	34,30	0,75	0,53	11,57	2,10
Camerún (3)	75	15,01	9,96	1,86	70,67	38,80	0,63	0,29	13,04	5,07
Morera (3)	55	25,86	11,10	2,32	54,70	35,73	0,59	0,25	6,97	5,67
Kikuyo (4)	30-33	14,15	21,96	2,79	57,28	26,62	1,02	0,17	12,86	1,33
Ryegrass (4)	34	14,79	21,66	5,66	42,13	20,32	0,84	0,17	12,28	2,08

*Edad de cosecha. PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; FDN, fibra detergente neutro; FDA, fibra detergente ácido; NFDN, nitrógeno insoluble en fibra detergente neutro; NFDA, nitrógeno insoluble en fibra detergente ácido; L, lignina.

Continuación. Cuadro 3. Composición nutricional en promedio de los diferentes forrajes (en base seca).

Forraje (n)	Edad*	MS %	PC	EE	FDN	FDA	NFDN	NFDA	Cenizas	L
	Días									
Cratylia (3)	90	29,23	19,21	4,56	60,00	39,77	1,57	0,59	7,97	7,20
Toledo (2)	27	27,10	13,80	3,60	65,80	33,00	0,53	0,11	7,89	2,35
Guinea corte (3)	45-60	19,31	10,24	2,38	67,10	40,70	0,88	0,17	12,27	2,40
Botón de oro (1)	45	11,63	23,40	2,20	39,80	24,90	2,54	0,69	15,30	9,80
Caña de azúcar (1)	300	22,94	3,40	1,90	38,30	23,50	0,15	0,07	2,00	2,60
Mulato (3)	24-33	23,36	11,70	2,37	64,87	34,17	0,41	0,15	11,16	2,57
Festulolium (1)	30	12,17	21,10	5,70	47,80	27,40	0,73	0,13	13,6	0,70
Limpograss (1)	24	25,90	5,60	2,60	70,50	33,10	0,79	0,20	4,10	3,70
Mombaza (1)	19	16,00	8,30	2,30	66,60	37,60	0,92	0,21	10,9	2,80

*Edad de cosecha. PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; FDN, fibra detergente neutro; FDA, fibra detergente ácido; NFDN, nitrógeno insoluble en fibra detergente neutro; NFDA, nitrógeno insoluble en fibra detergente ácido; L, lignina.

Cuadro 4. Composición nutricional de los diferentes ensilajes y subproductos (en base seca).

	MS	PC	EE	FDN	FDA	NFDN	NFDA	Cenizas	L
	%*	%* MS							
Ensilaje									
Cratylia (n=1)	26,52	21,13	3,10	45,90	33,20	0,94	0,40	8,38	11,50
Sorgo (n=2)	22,60-25,10	5,3-6,0	2,6-3,9	60,3-63,2	35,90-39,20	0,3-0,6	0,1-0,3	9,4-9,9	1,9-3,2
	(23,85)	(5,66)	(3,25)	(61,75)	(37,55)	(0,42)	(0,20)	(9,66)	(2,55)
Sorgo+pulpa de piña (n=1)	19,20	11,14	3,85	56,40	32,10	0,40	0,20	9,38	2,60
Maralfalfa (n=1)	21,90	7,09	4,37	64,16	40,60	0,25	0,17	10,05	4,30
15% guineo ¹ (n=1)	21,10	5,88	4,22	61,65	38,60	0,25	1,65	7,69	5,00
30% guineo ¹ (n=1)	23,60	5,45	3,06	45,88	25,99	0,31	0,22	8,06	5,20
45% guineo ¹ (n=1)	23,90	4,75	2,51	43,01	29,24	0,31	0,24	6,32	5,20
Subproducto									
Subproducto de piña (n=1)	13,28	6,63	2,94	64,50	37,90	0,44	0,21	4,97	2,60

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje

¹Ensilaje de maralfalfa con diferentes inclusiones de guineo cuadrado.

PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; FDN, fibra detergente neutro; FDA, fibra detergente ácido; NFDN, nitrógeno insoluble en fibra detergente neutro; NFDA, nitrógeno insoluble en fibra detergente ácido; L, lignina

4.3. Modelo del NRC (2001)

El contenido de NDT de los alimentos, como porcentaje de la materia seca, se calculó a partir de la suma de las digestibilidades verdaderas (dv) de las fracciones energéticas, que incluye a la proteína cruda (PC), los carbohidratos estructurales (FDN), los carbohidratos no fibrosos (CNF) y el extracto etéreo (EE) (multiplicado por 2,25 que hace referencia a 2,25 veces la cantidad de energía encontrada en los carbohidratos), asumiendo una pérdida endógena fecal de NDT del 7%. A continuación, se detalla la ecuación (NRC 2001):

NDT % = dPC + dCNF + (dFA * 2,25 + dFDN - 7, donde:

$$dvPC \text{ de forrajes} = \text{proteína cruda} * e^{(-1,2 * (N-FDA/PC))} \quad (1.1)$$

$$dvCNF = 0,98 * (100 - ((FDN - N-FDN) + \text{proteína cruda} + \text{cenizas} + \text{extracto etéreo}) * PAF) \quad (1.2)$$

$$dvFA = FA \text{ Nota: Si } EE < 1, \text{ entonces } FA = 0 \quad (1.3)$$

$$dvFDN = 0,75 * ((FDN - N-FDN) - \text{lignina}) * (1 - (\text{lignina} / (FDN - N-FDN))^{0,667}) \quad (1.4)$$

Donde N-FDN= Nitrógeno Insoluble en fibra detergente neutro; N-FDA= Nitrógeno Insoluble fibra detergente ácido; PAF= Factor de ajuste del procedimiento; FA= Ácidos grasos (es decir, EE - 1). Todos los valores expresados en porcentaje de materia seca.

Los NDT fueron convertidos en energía digestible (ED) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$ED1x \text{ (Mcal/kg)} = (dvCNF/100)*4,2 + (dvFDN/100)*4,2 + (dvPC/100)*5,6 + (FA/100)*9,4 - 0,3 \quad (1.5)$$

El modelo incluye un descuento debido que al incrementarse el consumo de alimento se reduce la digestibilidad del mismo, la ecuación empírica se detalla a continuación:

$$\text{Descuento} = ((NDT1x - ((0,18 * NDT1x) - 10,3)) * CMS) / NDT1x \quad (1.6)$$

Para el cálculo de la EM en forrajes con EE menor a 3,0% se utiliza la siguiente ecuación:

$$EM \text{ (Mcal/kg)} = (1,01 * ED - 0,45) \quad (1.7)$$

Para forrajes con EE por encima de 3,0% se utiliza la ecuación:

$$EM \text{ (Mcal/kg)} = (1,01 * ED - 0,45) + 0,0046 * (EE - 3) \quad (1.8)$$

La ENL se deriva de dos ecuaciones, una para forrajes con menos de 3,0% de EE (Ecuación 1.9) y otra para forrajes con más de 3,0% de EE (Ecuación 1.10):

$$ENL \text{ (Mcal/kg)} = (0,703 * EM - 0,19) \quad (1.9)$$

$$ENL \text{ (Mcal/kg)} = (0,703 * EM - 0,19) + (((0,097 * EM + 0,19)/97) * (EE - 3)) \quad (1.10)$$

La ENm y ENg se calculó a partir de las siguientes ecuaciones:

$$ENm \text{ (Mcal/kg)} = 1,37 * EM - 1,138 * EM2 + 0,0105 * EM3 - 1,12 \quad (1.11)$$

$$ENg \text{ (Mcal/kg)} = 1,42 * EM - 0,174 * EM2 + 0,0122 * EM3 - 1,65 \quad (1.12)$$

A continuación, se presentan las ecuaciones para el contenido energético con la metodología del NRC (1989).

$$ED \text{ (Mcal/kg)} = 0,04409 * NDT (\%) \quad (2.1)$$

$$EM \text{ (Mcal/kg)} = 1,01 * ED \text{ (Mcal/kg)} - 0,45 \quad (2.2)$$

Con el fin de conocer el impacto de la lignina y la FDN sobre el contenido energético de los alimentos obtenido mediante la ecuación del NRC (2001), se agruparon según su contenido de lignina y FDN en cuatro grupos. Los grupos fueron clasificados mediante los percentiles 25, 50 y 75.

Grupo 1= ≤ 1,90%

Grupo 2= ≤ 2,50% pero > 1,90%

Grupo 3= ≤ 3,50% pero > 2,50%

Grupo 4= ≥ 3,51%

Según el porcentaje de FDN, se agrupan en:

Grupo 1= $\leq 56,40\%$

Grupo 2= $\leq 61,80\%$ pero $> 56,40\%$

Grupo 3= $\leq 66,60\%$ pero $> 61,80\%$

Grupo 4= $\geq 66,61\%$

4.4. Modelo de producción de gas *in vitro*

Las muestras se incubaron por duplicados en licor ruminal junto con cuatro soluciones (buffer, reductora, macro y microminerales). Se utilizaron muestras de 500 mg durante 24 h a una temperatura de 39°C según la metodología de ANKOM^{RF} Gas Production System (2012). El licor ruminal fue recolectado de vacas Jersey en producción cuyo licor ruminal presentaba un pH entre 6,14 y 6,67. La agitación de los frascos se hizo de forma manual, con una agitación a las 2, 4 y 6 horas de haber iniciado la incubación, y la siguiente a las 21 y 23 horas, esto por horario del Centro de Investigación donde se llevó a cabo el experimento.

La incubación anaeróbica se realizó en el equipo automatizado Sistema de Producción de Gas, modelo ANKOM^{RF} Gas Production System que cuenta con una calibración interna de fábrica. La producción de gas se expresó en ml, y para ello se transformó de psi a ml según como lo detalla el manual de ANKOM^{RF} Gas Production System (2012).

Según Weiss (1993) la FDN tiene un impacto mayor que los otros componentes químicos para predecir la energía en los alimentos, lo cual las variables tienen una relación inversamente proporcional. Es por esta razón que se utiliza la FDN para clasificar y discutir sobre la producción de gas y la energía metabolizable obtenida mediante la ecuación de PG. Los grupos fueron citados anteriormente y se obtuvieron mediante los percentiles 25, 50 y 75.

4.5. Energía metabolizable de los diferentes materiales con las ecuaciones de producción de gas

Para el cálculo de energía metabolizable se utilizaron las ecuaciones que se detallan a continuación:

(Kamalak y Canbolat 2010); (Boga et al., 2014) (PC= % MS)

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 2,2 + (0,136*PG24h) + (0,057*PC) / 4,184 \quad (3.1)$$

(Cerrillo et al., 2012); (Karabulut et al., 2007) (PC y EE=% MS)

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 2,2 + (0,136*PG24h) + (0,057*PC) + (0,0029*EE^2) / 4,184 \quad (3.2)$$

(Menke et al., 1979) (PC y EE=% MS)

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 1,54 + (0,145*PG24h) + (0,00412*PC) + (0,0065*PC^2) + (0,0206*EE) / 4,184 \quad (3.3)$$

(Steingass y Menke 1980) (PC y EE= g/kg MS)

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 1,2 + (0,1456*PG24h) + (0,007675*PC) + (0,01642*EE) / 4,184 \quad (3.4)$$

(Krishnamoorthy et al., 1995) (PC y EE= g/kg MS)

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 2,2 + (0,136*PG24h) + (0,0057*PC) + (0,0002859*EE^2) / 4,184 \quad (3.5)$$

(Menke y Steingass 1988) 12f (PC y EE= g/kg MS)

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 1,24 + (0,1457*PG24h) + (0,007*PC) + (0,0224*EE) / 4,184 \quad (3.6)$$

(Menke y Steingass 1988) 28f (PC y EE= g/kg MS)

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 0,72 + (0,1559 * (4,7+0,89*PG24h) + (0,0068*PC) + (0,0249*EE) / 4,184 \quad (3.7)$$

(Menke y Steingass 1988) 16e (PC y EE= g/kg MS)

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 2,2 + (0,1136*PG24h) + (0,0057*PC) + (0,00029*EE) / 4,184 \quad (3.8)$$

(Seker 2002) (PC y EE %MS);

$$EM \text{ (Mcal/kg MS)} = 0,728 + (0,0219*PG) + (0,0203*PC) + (0,124*EE) \quad (3.9)$$

Dónde: PG= Producción de gas a 24 h expresado en ml/500mg de muestra;
PC= proteína cruda; EE= extracto etéreo.

4.6. Descripción del análisis

4.6.1. Relación entre composición nutricional de los diferentes alimentos y la energía metabolizable obtenida por las diferentes metodologías.

Mediante un análisis de correlación de Pearson y un análisis de regresión lineal se evaluó la relación entre la composición nutricional de los alimentos utilizados en el experimento y la energía metabolizable obtenida por medio de la ecuación del NRC (2001) y las diferentes ecuaciones de producción de gas.

4.6.2. Análisis de varianza.

Para conocer las diferencias entre los grupos con diferente contenido de lignina en relación a la EM obtenida a partir de la ecuación del NRC (2001); y las diferencias entre los grupos según el contenido de FDN de acuerdo a la producción de gas y la EM calculada por medio de la metodología de producción de gas, se utilizó un modelo ANOVA de INFOSTAT (Di Rienzo et al. 2014), de acuerdo a la siguiente ecuación:

$y_{ijk} = \mu + T_i + \varepsilon_{ijk}$ ($i = 1, 2, 3, 4,$) ($j = 1, 2, 3, 4,$), donde:

y = es la observación ij -ésima de la variable respuesta de la energía

μ = es la media global

T_i = Es el efecto del tratamiento i -ésimo de la FDN o lignina

ε_{ij} = error aleatorio (error experimental)

Cuando se determinó diferencias significativas entre los grupos, se realizó una comparación entre medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0,05.

4.6.3. Desarrollo de ecuaciones de regresión

Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para estimar el contenido de la energía metabolizable, para lo cual se utilizaron dos ecuaciones de la recta, la primera para la variable NRC (1989) y la segunda para la variable NRC (2001):

$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_p X_p + \varepsilon$, donde:

Y=es el valor de la variable dependiente (energía calculada con la metodología NRC (1989) y NRC (2001))

β_0 = es la intersección en el eje Y (intercepto)

β_p = es el coeficiente de regresión asociado a la variable X_i

X_p = es el valor de la variable independiente (X_i = Producción de gas; proteína cruda; extracto etéreo; fibra detergente neutro; lignina)

ε = es el error asociado a la estimación

4.6.4. Relación entre las ecuaciones del NRC (1989) y (2001) y las ecuaciones de producción de gas

La información recolectada se analizó mediante un análisis de correlación lineal entre la metodología del NRC (2001) y las ecuaciones de producción de gas.

$$r = \frac{\sum(X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{(n - 1)s_x s_y}$$

Luego se realizó un análisis de regresión lineal simple, para lo cual se utilizó la siguiente ecuación y el paquete estadístico INFOSTAT versión 2014e (Di Rienzo et al. 2014).

$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$, donde:

Y= es el valor de la variable dependiente (energía calculada con la metodología NRC (2001))

β_0 = es la intersección en el eje Y (intercepto)

β_1 =es la pendiente de la recta (coeficiente de regresión)

$X=$ es el valor de la variable independiente (energía calculada con la metodología producción de gas)

$\varepsilon=$ es el error asociado a la estimación

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Contenido energético de pastos y ensilajes con la metodología de NRC (2001)

De los forrajes analizados en esta investigación, el pasto ryegrass fue el que presentó mayor concentración de EM/kg de MS (2,59 Mcal), y el de menor contenido de energía fue el pasto camerún (1,79 Mcal/kg de MS). En el cuadro 6 se puede encontrar la concentración mínima, máxima y el promedio de la energía encontrada en los forrajes de esta investigación.

El contenido energético de los forrajes analizados en este experimento, fue en varios forrajes más alto que otros estudios, entre ellos el pasto ratana, estrella africana, braquipará, toledo, morera, cratylia y mombaza, este comportamiento se puede deber a factores que afectan el valor nutritivo de los pastos. Según Pirela (2005) los factores morfológicos, fisiológicos, climáticos o de manejo afectan el valor nutritivo de los forrajes, además de la metodología para obtener la concentración energética. Forrajes como el ryegrass, kikuyo, limpograss, mulato, caña de azúcar y camerún presentaron valores similares a los informados por otros investigadores (Cuadro 4).

Cuadro 5. Contenido de energía metabolizable (EM) determinada mediante la ecuación del NRC (2001) de los diferentes forrajes.

Forraje	EM (Mcal/kg MS)		Referencia
	Presente investigación*	Otros estudios	
Ryegrass n=4	2,50-2,76 (2,59)	2,45	Villalobos (2006).
Guinea n=5	1,98-2,26 (2,11)	1,87 ^a ; 1,55-2,47	Sánchez (2007); Rodríguez-Ramírez et al. (2013).
Ratana n=4	2,26-2,32 (2,29)	1,79 ^a	Sánchez y Soto (1997).
Estrella africana n=4	2,18-2,41 (2,34)	1,98 ^a ; 2,05	Salazar (2007); Villalobos y Arce (2014).
Braquipará n=5	2,29-2,48 (2,30)	1,80 ^c	Aparecida (2012).
Toledo n=2	2,31-2,35 (2,33)	1,97 ^a -2,18 ^a	Sánchez (2007).
Kikuyo n=4	2,33-2,48 (2,41)	2,38 ^a -2,58 ^a ; 2,37; 2,08	Sánchez (2007); Andrade (2006); Peters (2008).
Brizantha n=2	1,88-2,27 (2,07)	1,97 ^a -2,18 ^a	Sánchez (2007).
Limpograss n=1	2,16	2,16-2,24 ^b	Sollenberger et al. (1997).
Festulolium n=1	2,58	-	-
Mulato n=3	2,10-2,23 (2,17)	2,18 ^a ; 2,39	Sánchez (2007); Rodríguez-Ramírez et al (2013).

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

^a Datos obtenidos convirtiendo de ED a EM por medio de la ecuación 2.2.

^b Datos obtenidos convirtiendo de NDT a EM por medio de las ecuaciones 2.1 y 2.2.

^c Datos obtenidos a través de la composición nutricional utilizando la ecuación del NRC (2001).

Continuación. Cuadro 4. Contenido de energía metabolizable (EM) determinada mediante la ecuación del NRC (2001) de los diferentes forrajes.

Forraje	EM (Mcal/kg MS)		Referencia
	Presente investigación*	Otros estudios	
Botón de oro n=1	2,15	-	-
Caña de azúcar n=1	2,46	2,38 ^a ; 2,47	Sánchez (2007); Magalhães et al. (2010).
Morera n=3	2,04-2,29 (2,18)	1,78 ^a -2,00 ^a	Boschini-Figueroa (2006).
Camerún n=3	1,74-1,84 (1,79)	1,77 ^a ; 2,10; 1,81	Sánchez (2007); Hinojosa et al. (2014); Magalhães et al. (2010).
Cratylia n=3	2,21-2,27 (2,24)	1,77 ^a	Sánchez (2007).
Mombaza n=1	2,09	1,80	Lista et al. (2008).

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

^a Datos obtenidos convirtiendo de ED a EM por medio de la ecuación 2.2.

Se dice que la determinación de la fibra del forraje es importante para conocer el valor nutritivo de los alimentos, ya que ocupa un lugar central en la evaluación de la disponibilidad de la energía, aportando una cantidad significativa de energía a bajo costo y siendo el componente químico con mayor variabilidad natural (Detmann et al. 2004).

Weiss (1993) explica que la fibra es la variable más común para predecir el contenido de energía en los alimentos, debido a la relación negativa que existe entre el contenido de fibra (principalmente por el contenido de celulosa) y la energía disponible, causado por la baja digestibilidad de esta variable.

Uno de los factores que impactan en el contenido energético de los forrajes es el componente fisiológico, ya que a medida que avanza el estado de madurez, aumenta la formación de componentes estructurales como la fibra detergente neutra y ácida (Pirela 2005). Estos componentes químicos se correlacionan negativamente con la energía (FDN, -0,56; FDA, -0,54; $p < 0,05$), en la figura 2 se puede observar la

relación negativa que existe entre la FDN y la energía, a pesar de tener un coeficiente de regresión bajo, se puede ilustrar esa relación negativa entre las variables. Por esta razón, los pastos y ensilajes con un contenido de FDN mayor a 66,61%, presentaron un valor de EM menor (2,06 Mcal/kg MS) que pastos con menos de 56,40% de FDN, que cuyo contenido en promedio fue de 2,35 Mcal/kg MS ($p < 0,05$) (Cuadro 5).

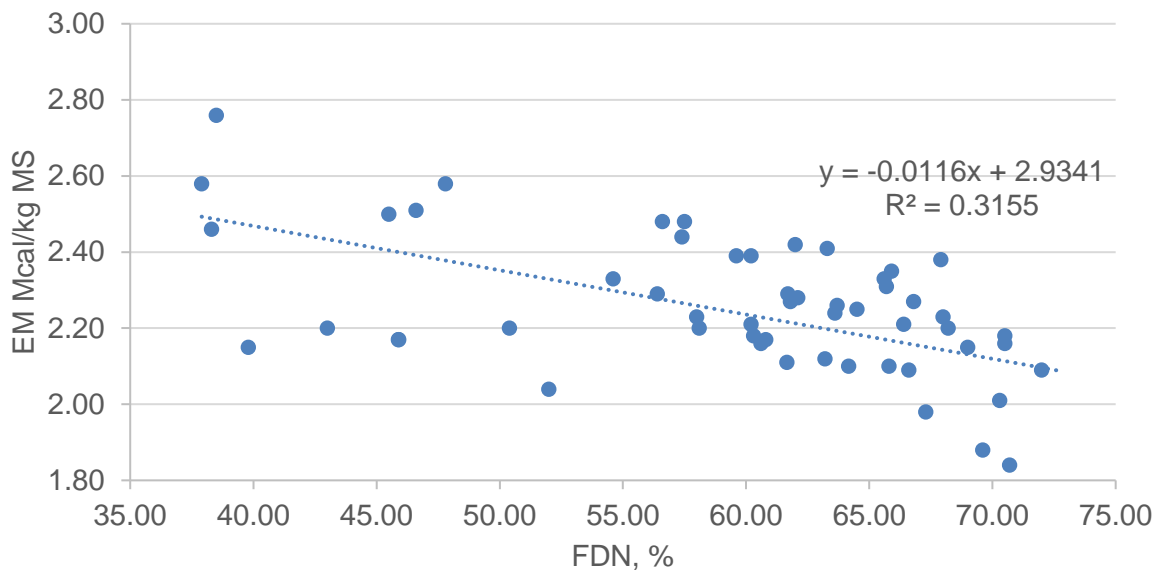


Figura 2. Análisis de regresión entre la EM obtenida mediante la ecuación del NRC (2001) y el porcentaje de FDN.

La lignina de los forrajes analizados tiene una correlación baja con el contenido de energía (-0,35; $p < 0,05$). Al agrupar los pastos y ensilajes según su contenido de lignina en cuatro grupos, el grupo 1 (2,41 Mcal/kg MS) fue estadísticamente diferente ($p < 0,05$) al grupo 4 (2,11 Mcal/kg MS) en su concentración energética en promedio (Cuadro 5).

El componente lignina tiene un papel importante en la disponibilidad de la energía y la digestibilidad de la fibra, ya que el proceso de lignificación en los forrajes disminuye la degradación de la hemicelulosa y celulosa en el rumen, y, en consecuencia, habrá menor disponibilidad de energía para el animal (Salazar 2007).

Cuadro 6. Análisis de varianza según contenido de lignina, FDN y la EM (NRC 2001).

	n	EM (Mcal/kg MS)
Grupo según lignina		
1 ($\leq 1,90\%$)	14	2,41 ^a
2 ($\leq 2,50\%$, pero $> 1,90\%$)	14	2,22 ^b
3 ($\leq 3,50\%$, pero $> 2,50\%$)	14	2,22 ^b
4 ($\geq 3,51\%$)	14	2,11 ^b
Grupo según FDN		
1 ($\leq 56,40\%$)	14	2,35 ^a
2 ($\leq 61,80\%$, pero $> 56,40\%$)	14	2,29 ^b
3 ($\leq 66,60\%$, pero $> 61,80\%$)	14	2,25 ^b
4 ($\geq 66,61\%$)	14	2,06 ^b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

El extracto etéreo y la energía metabolizable presenta una correlación de 0,51 ($p < 0,05$) (Cuadro 6), lo cual es considerada una relación moderada entre las variables. El NRC (2001) menciona que el extracto etéreo no representa una fracción nutricionalmente uniforme, lo que conlleva a no tener una digestibilidad constante en los alimentos, y que más bien se utiliza la digestibilidad verdadera de los ácidos grasos para la predicción de los NDT.

Cuadro 7. Coeficientes de correlación entre los constituyentes químicos y la EM (NRC 2001).

Constituyente químico	Coefficiente de correlación (R^2)
Cenizas	-0,04 ^{NS}
Lignina	-0,35 [*]
FDN	-0,56 ^{**}
FDA	-0,54 ^{**}
PC	0,58 ^{**}
EE	0,51 ^{**}

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. NS = No significativo

La correlación entre la energía y la proteína del forraje fue positiva pero moderada (0,58; $p < 0,05$) (Cuadro 6). Weiss (1993) encontró que la PC se correlaciona positivamente con la disponibilidad energética en el forraje ($R^2 = 0,15$ a $0,90$). Asimismo, dicho autor indica que la PC no es un indicador preciso del valor energético de los alimentos.

El ensilaje que presentó mayor valor de EM fue la mezcla de sorgo con pulpa de piña, que tuvo un valor energético de 2,29 Mcal/kg MS de EM; el de menor contenido fue el ensilaje de maralfalfa con 2,10 Mcal/kg MS de EM. El subproducto de piña tuvo un valor energético de 2,25 Mcal/kg MS de EM (Cuadro 7).

Cuadro 8. Contenido de energía metabolizable (EM) determinada mediante la ecuación del NRC (2001) de los diferentes ensilajes y subproductos.

	EM (Mcal/kg MS)*
Ensilaje	
Cratylia	2,17
Sorgo n=2	2,12-2,18 (2,15)
Sorgo+pulpa de piña	2,29
Maralfalfa	2,10
15% guineo ¹	2,11
30% guineo ¹	2,17
45% guineo ¹	2,20
Subproducto	
Subproducto de piña	2,25

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

¹ Ensilaje de maralfalfa con diferentes porcentajes de inclusión de guineo.

5.2. Producción de gas (ml) a partir de los diferentes forrajes

5.2.1. Relación entre la composición nutricional de los forrajes y la producción de gas a las 24 h

El porcentaje de proteína cruda, de cenizas y extracto etéreo en los forrajes no tuvieron un efecto significativo en la producción de gas a las 24h ($p > 0,05$), así ninguna de las variables aumentó o disminuyó de forma considerable la PG. Aunque el coeficiente de correlación es bajo, los componentes lignina, fibra detergente ácido y neutro presentan un efecto negativo en la PG, siendo una correlación negativa de 0,33, 0,32 y 0,44 ($p < 0,05$), respectivamente. En la figura 3 se puede observar el efecto

negativo que ejerce la FDN sobre la producción de gas, aunque su coeficiente de regresión es bajo permite ilustrar el efecto de la FDN en la PG.

Krishnamoorthy et al. (1995) determinaron la correlación entre la FDN y la producción de gas a las 24h, obteniendo una correlación negativa de 0,60. En la presente investigación la correlación fue de -0,44; lo cual refleja el efecto inversamente proporcional de la FDN sobre la producción de gas.

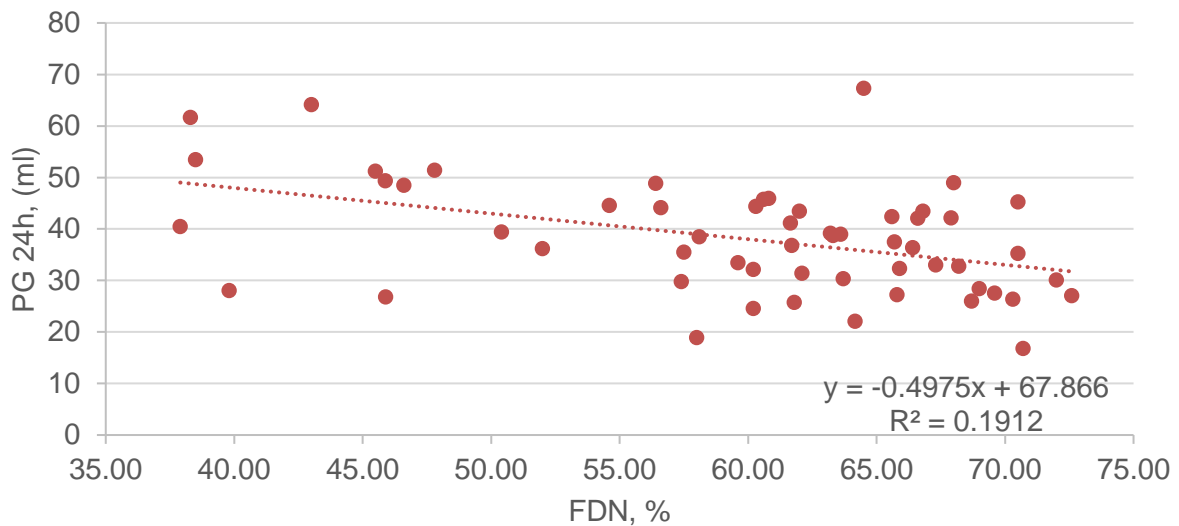


Figura 3. Análisis de regresión entre el porcentaje de FDN y la producción de gas a las 24 h.

Al ser la fibra detergente neutro el componente con mayor efecto sobre la producción de gas, se clasificaron los alimentos en 4 grupos según el porcentaje de FDN. Los forrajes y ensilajes agrupados en el grupo 1 difirieron estadísticamente ($p < 0,05$) de los forrajes con FDN mayor a 66,60% (grupo 4), lo cual indica que a mayor concentración de FDN menor es la producción de gas (Cuadro 8).

Cuadro 9. Análisis de varianza según el contenido de FDN y PG24h.

	n	PG 24 h
1 ($\leq 56,40\%$)	14	45,99 ^a
2 ($\leq 61,80\%$, pero $> 56,40\%$)	14	35,48 ^b
3 ($\leq 66,60\%$, pero $> 61,80\%$)	14	37,80 ^{ab}
4 ($\geq 66,61\%$)	14	33,08 ^b

^a Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Cerrillo y Juárez (2004) encontraron una correlación negativa entre la producción de gas y las fracciones químicas relacionadas con el contenido de la pared celular de los forrajes (FDN y FDA). La producción de gas involucra tanto la fermentación del almidón como los componentes fibrosos del material (Lara et al. 2009), por lo que la adición de carbohidratos no estructurales de rápida degradación disminuiría el componente de FDN, incrementando la producción de gas (Lara et al. 2009).

5.2.2. Producción de gas (ml) a las 24 h de incubación de los diferentes alimentos

Tal como se observa en la figura 4, el forraje que presentó mayor producción de gas a las 12 y a las 24 h fue la caña de azúcar, con 52,51 y 61,64 ml, respectivamente. Forrajes como el festulolium y el ryegrass presentaron igualmente una alta producción de gas (Cuadro 9).

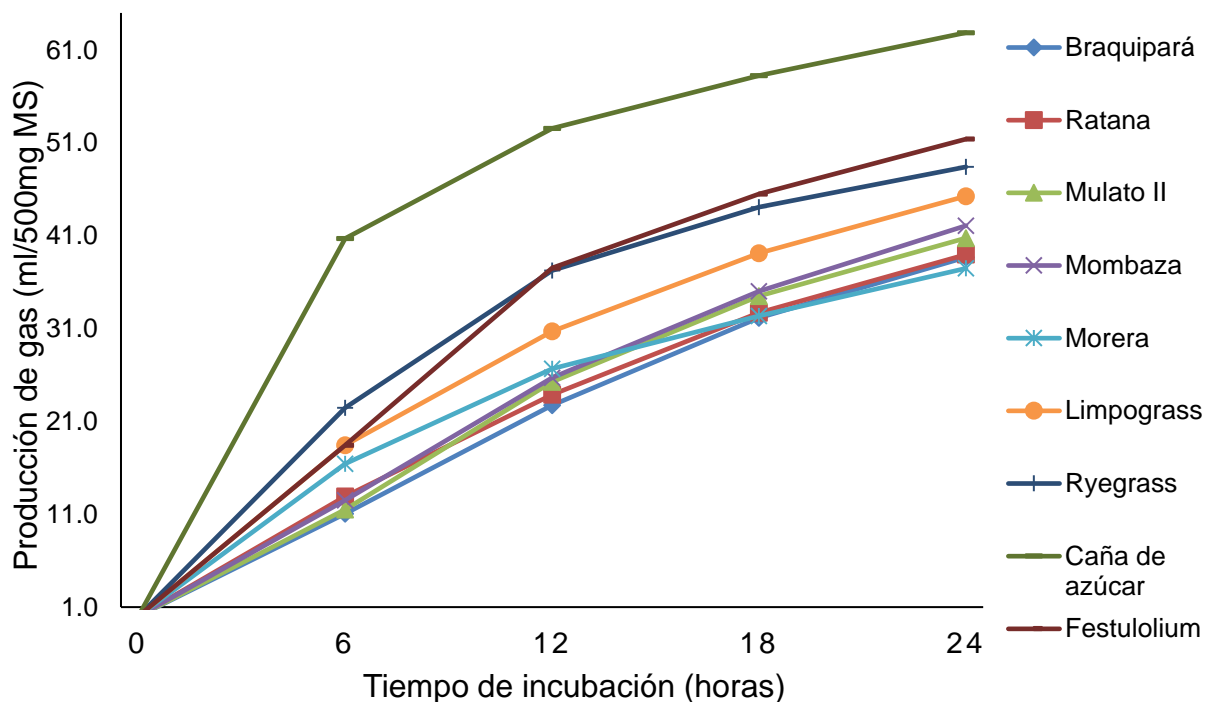


Figura 4. Producción acumulada de gas in vitro a las 24 h de los nueve forrajes con mayor producción de gas.

El pasto Camerún fue el pasto que tuvo la menor producción de gas acumulada a las 12 horas (10,13 ml) y a las 24 horas (23,30 ml). Asimismo, el pasto guinea utilizado para corte fue el segundo material en producir menos gas a las 12 h (15,46 ml). El forraje *Cratylia argentea* tuvo menor producción de gas entre las 12 y 24 h, siendo el segundo pasto con menor producción a las 24 h (25,55 ml) (Figura 5).

Cuadro 10. Producción de gas acumulada de diferentes forrajes cuando se incubaron a las 12 y 24 h con licor ruminal.

	n	Producción de gas acumulada (ml/500 mg MS)	
		12 h*	24 h*
Guinea	2	14,75-23,25 (19,00)	30,07-32,76 (31,42)
Ratana	4	19,75-30,51 (25,26)	31,38-45,76 (38,98)
Estrella africana	4	22,00-25,88 (23,69)	32,13-42,13 (37,06)
BraQUIpará	5	15,88-28,88 (23,83)	28,44-44,13 (38,68)
Cratylia	3	14,13-18,25 (15,88)	18,88-25,76 (23,07)
Brizantha	2	15,50-24,38 (19,94)	27,57-43,45 (35,51)
Camerún	3	7,50-12,00 (10,13)	16,82-27,07 (23,30)
Morera	3	22,50-30,76 (26,71)	36,19-39,38 (37,46)
Toledo	2	23,88-23,88 (23,88)	32,32-37,51 (34,92)
Kikuyo	4	17,25-30,26 (22,79)	29,76-44,57 (35,82)
Ryegrass	4	27,76-42,51 (37,26)	40,45-53,45 (48,39)
Guinea corte	3	13,63-18,00 (15,46)	26,38-33,01 (29,90)
Botón de oro	1	18,63	28,01
Caña de azúcar	1	52,51	61,64
Mulato	3	14,75-32,76 (24,26)	27,26-48,95 (40,72)
Festulolium	1	37,51	51,39
Limpograss	1	30,76	45,26
Mombaza	1	25,76	42,07

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

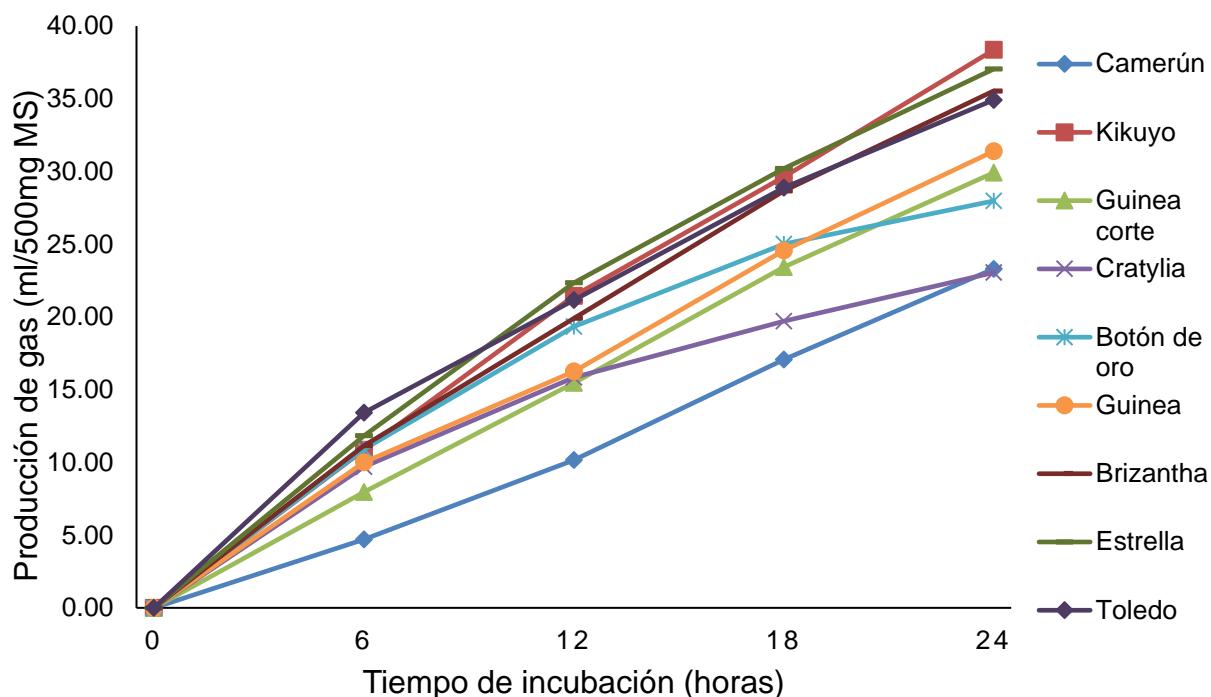


Figura 5. Producción acumulada de gas in vitro a las 24 h de los nueve forrajes con menor producción de gas.

Es importante comparar la PG a las 24 h con otras investigaciones en relación a la FDN, a pesar de que la PG de cada grupo presenta rangos muy amplios. En el Cuadro 10 se puede observar los valores de producción de gas de los diferentes grupos.

Cuadro 11. Producción de gas de los diferentes grupos según el contenido de FDN.

Grupo (FDN, %)	Producción de gas (ml/500 mg MS)		
	Mínimo	Máximo	Promedio
1 ($\leq 56,40$ %)	26,82	64,14	45,99
2 ($\leq 61,80\%$ pero $> 56,40\%$)	18,88	45,95	35,48
3 ($\leq 66,60\%$ pero $> 61,80\%$)	22,07	67,33	37,80
4 ($\geq 66,61\%$)	16,82	48,95	33,08

Akinfemi et al. (2009) realizaron un estudio donde determinaron la producción de gas de cáscaras de yuca, mazorcas de maíz, pulpa de naranja y cáscaras de ñame, según su contenido de FDN estos materiales (entre 68,48 y 70,63% de FDN) se

agrupan en el grupo 4. La pulpa de naranja y cáscaras de ñame presentaron una PG a las 24 h mayor al máximo del grupo (49,33 y 54,33 ml/200 mg, respectivamente) a pesar de su alto valor de FDN. El ñame al ser un producto con alto contenido de almidón (Knowles et al. 2012), se podría relacionar en que las cáscaras presentaban un valor alto de este carbohidrato, lo que ocasionó una mayor producción de gas.

La pulpa de naranja tiene un elevado contenido de carbohidratos solubles y en pectinas (de Blas et al. 2010), este carbohidrato tiene una fermentación muy diferente al de los otros carbohidratos estructurales, por lo que se incluyen en el mismo grupo que los azúcares (Relling y Mattioli 2003), lo cual pudo permitir una mayor degradación y una mayor PG comparada a los forrajes utilizados en esta investigación. Las cáscaras de yuca y mazorcas de maíz tuvieron un comportamiento similar al rango esperado del grupo (PG a las 24; 43,67 y 30,33 ml/200 mg, respectivamente).

Boga et al. (2014) determinaron mediante la cinética de la producción de gas *in vitro* el volumen de gas a las 24 h de *Lotus corniculatus*, *Trifolium alexandrinum* y alfalfa (*Medicago sativa*). Estas leguminosas se ubican en el grupo 1 por su contenido de FDN, el cual presenta la mayor producción de gas (promedio 45,99 ml, Cuadro 10). Estos materiales presentan una PG muy baja comparada con el promedio del grupo, este efecto se puede deber a que alimentos con alto contenido de nitrógeno degradable pueden disminuir la producción de gas por la unión del dióxido de carbono con amoníaco (Krishnamoorthy et al. 1995). También, debido al alto contenido de lignina en estos materiales, este componente pudo suprimir la máxima expresión de las leguminosas, limitando la PG.

En Turquía se determinó la producción de gas de henos de leguminosas: Alfalfa, *Onobrychis sativa* L., *Vicia sativa* L., *Pisum sativum* L., *Trifolium repens* L. y *Cicer arietinum* L., produciendo 53,33; 51,0; 58,33; 51,33; 50,00 y 45,67 ml de gas/200 mg MS a las 24 h, respectivamente (Karabulut et al. 2007). De acuerdo al contenido de FDN de los henos se agrupan en el grupo 1, el volumen de gas producido es superior al promedio; por lo que se podría inferir en que el N degradable no limitó la actividad microbial y permitió que las fracciones de carbohidratos se degraden de acuerdo al potencial.

En la presente investigación, el ensilaje que produjo mayor gas a las 12 y 24 h fue la mezcla de maralfalfa con 45% de guineo (55,26 y 64,14 ml, respectivamente) (Figura 6); mientras que el ensilaje de pasto maralfalfa fue el de menor producción de gas acumulada a las mismas horas (12,00 y 22,07 ml). El subproducto de piña presentó una buena producción de gas, acumulando 41,63 ml a las 12 h, y 67,33 ml a las 24 h (Cuadro 11).

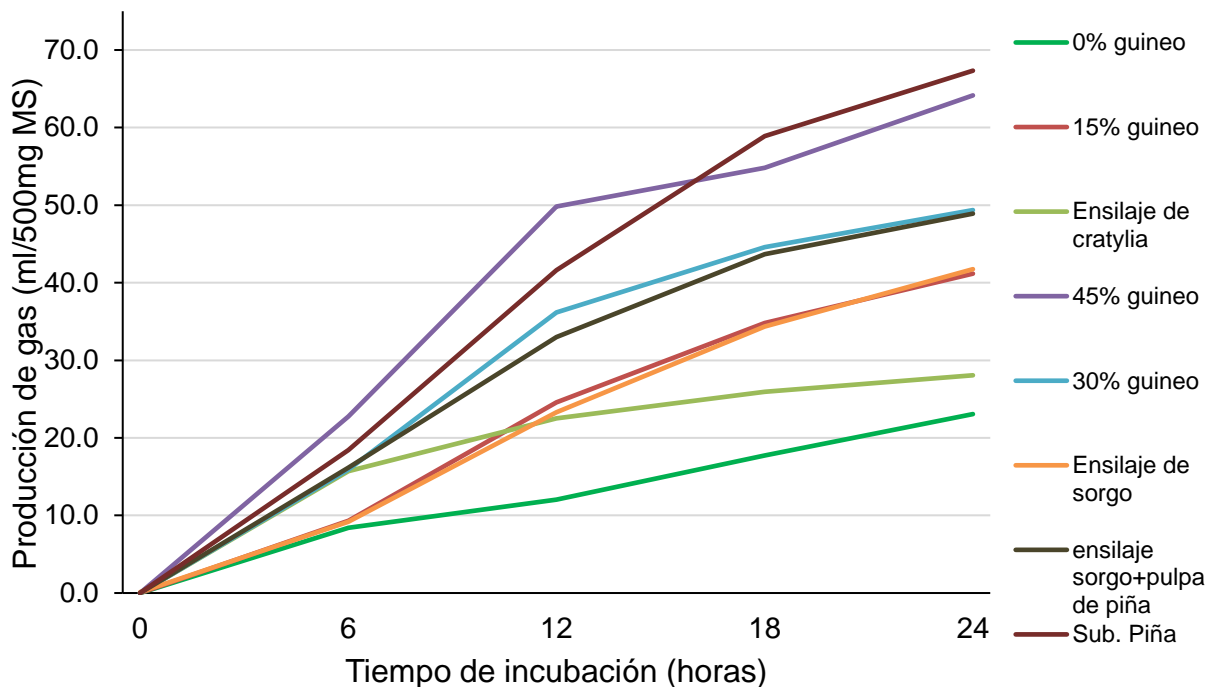


Figura 6. Producción acumulada de gas de los diferentes ensilajes y del subproducto de piña a las 24 h.

Cuadro 12. Producción de gas acumulada de diferentes ensilajes y subproductos cuando se incubaron a las 12 y 24 h con licor ruminal.

Ensilajes	n	Producción de gas acumulada (ml/ 500mg)	
		12 h*	24 h*
Cratylia	1	22,50	26,82
Sorgo	2	22,50-24,13 (23,32)	39,13-44,38 (41,76)
Sorgo + pulpa de piña	1	33,01	48,88
Maralfalfa	1	12,00	22,07
15% guineo ¹	1	24,63	41,13
30% guineo ¹	1	41,63	49,32
45% guineo ¹	1	55,26	64,14
Subproducto			
Piña	1	41,63	67,33

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

¹ Ensilaje de maralfalfa con diferentes inclusiones de guineo cuadrado.

Cuando ocurre la fermentación de los alimentos se da la liberación de gas, lo cual genera una curva de degradación con forma sigmoideal. La curva creada está dividida en tres fases: una fase inicial (producción de gas lenta), una exponencial (producción de gas rápida) y una asintótica (producción de gas disminuye llegando a cero) (Oliveira et al. 2014). Como se puede observar en las figuras 4, 5 y 6, la curva de producción de gas sigue en constante crecimiento desde las 0 hasta las 24 h, por lo que se podría interpretar que se encuentra en la fase exponencial, lo cual si se aumenta el tiempo de incubación la PG aumentaría.

5.2.3. Energía metabolizable de los diferentes forrajes con la metodología de producción de gas.

El ryegrass es el forraje con mayor contenido energético con la ecuación Menke et al. (1979), con 3,32 Mcal/kg MS; el mismo patrón se observa con la ecuación de Seker (2002) y la 2a. Los forrajes de menor contenido energético son el Camerún, mulato y braquipará para la ecuación Menke et al. (1979); mientras que con la ecuación de Seker (2002) fueron el Camerún, guinea y brizantha. Con la ecuación 2a el

contenido energético menor fue del pasto camerún (1,79 Mcal/kg MS), seguido del pasto guinea (1,85 Mcal/kg MS) (Cuadro 12).

Cuadro 13. Contenidos de energía metabolizable calculados con la metodología de producción de gas.

	n	Mcal/kg MS EM		
		Menke et al. (1979)*	Seker (2002)*	2a*
Guinea	2	1,48-1,76 (1,62)	1,76-2,05 (1,90)	1,85-2,03 (1,94)
Ratana	4	1,77-2,21 (1,98)	1,99-2,33 (2,17)	2,00-2,17 (2,11)
Estrella africana	4	1,79-2,32 (2,14)	1,97-2,51 (2,30)	1,98-2,29 (2,17)
Braquipará	5	1,44-2,56 (2,05)	1,91-2,63 (2,29)	1,87-2,38 (2,15)
Cratylia	3	1,71-1,84 (1,78)	1,90-2,64 (2,19)	1,95-2,20 (2,11)
Brizantha	2	1,49-2,04 (1,76)	1,76-2,34 (2,05)	1,95-2,05 (2,00)
Camerún	3	1,07-1,51 (1,35)	1,42-1,81 (1,67)	1,79-1,94 (1,86)
Morera	3	1,76-2,14 (1,90)	1,96-2,20 (2,06)	2,01-2,23 (2,10)
Toledo	2	1,83-1,98 (1,91)	2,22-2,23 (2,23)	2,09-2,11 (2,10)
Kikuyo	4	2,18-2,63 (2,40)	2,22-2,45 (2,29)	2,29-2,43 (2,37)
Ryegrass	4	2,30-3,32 (2,84)	2,61-3,13 (2,93)	2,45-2,74 (2,56)
Guinea corte	3	1,56-1,65 (1,59)	1,81-1,96 (1,89)	1,98-2,01 (1,99)
Botón de oro	1	2,22	2,09	2,37
Caña de azúcar	1	2,53	2,38	2,29
Mulato	3	1,39-2,80 (2,09)	2,20-2,51 (2,33)	1,91-2,27 (2,09)
Festulolium	1	2,89	2,99	2,54
Limpograss	1	2,00	2,16	1,91
Mombaza	1	1,95	2,10	2,01

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

Los componentes químicos que tienen un mayor impacto en el contenido energético de los forrajes y ensilajes son la PC y la FDN, siguiendo el mismo patrón que se observó cuando se analizaron la correlación entre los componentes químicos y la EM obtenida por la ecuación del NRC (2001).

La FDN tiene un efecto negativo sobre la energía determinada por las ecuaciones de producción de gas. La correlación entre la ecuación de Menke et al (1979) y la FDN fue de -0,63 ($p < 0,05$), siendo el componente con más impacto, seguido de la proteína cruda (0,54; $p < 0,05$). De igual manera para la ecuación de Seker (2002). Para la ecuación determinada en este estudio (2a), la correlación entre la FDN y la energía fue -0,75 ($p < 0,05$), mientras que, para la PC, la correlación fue positiva (0,76; $p < 0,05$).

En el estudio realizado por Krishnamoorthy et al. (1995) encontraron una correlación negativa significativa entre la EM y la FDN ($R^2 = -0,82$), al igual que en este estudio. Estos autores determinaron la energía de diferentes forrajes, entre ellos el *Pennisetum purpureum* que presentó un contenido energético de 2,25 Mcal/kg MS; Alfalfa 2,06 Mcal/kg MS y *Leucaena leucocephala* K8 y K72 1,96 Mcal/kg MS y 1,89 Mcal/kg MS, respectivamente. El *Pennisetum* se clasifica en el grupo 4 ($\bar{x} = 1,97$ Mcal/kg MS; Cuadro 13), lo cual en este caso el contenido de FDN no fue determinante para que el pasto presentará un alto valor de energía, a pesar de que los autores mencionan que la energía y la FDN son inversamente proporcionales.

La leguminosa Alfalfa y las Leucaenas K8 y K72 se incluyen en el grupo 1 según la FDN, a pesar de que el porcentaje de FDN es bajo, el contenido energético de estos materiales no es el esperado, ya que en la presente investigación alimentos con una FDN similar obtuvieron mayor energía por kilogramo de materia seca. La producción de gas de estos materiales también fue bajo, por lo que se podría relacionar con una afectación directa del N degradable, lo cual pudo disminuir la producción de gas por la unión del dióxido de carbono con amoníaco.

Cuadro 14. Energía metabolizable de los diferentes grupos según el contenido de FDN.

Grupo	Energía metabolizable (Mcal/kg MS) ¹		
	Mínimo	Máximo	Promedio
1 ($\leq 56,40$ %)	2,01	2,74	2,35
2 ($\leq 61,80\%$ pero $> 56,40\%$)	1,95	2,39	2,18
3 ($\leq 66,60\%$ pero $> 61,80\%$)	1,88	2,28	2,07
4 ($\geq 66,61\%$)	1,79	2,27	1,97

¹ Ecuación 2a

Boga et al. (2014) obtuvieron una concentración energética entre 1,58 y 1,86 Mcal/kg MS para las leguminosas *Lotus corniculatus*, *Trifolium alexandrinum* y Alfalfa. Estas leguminosas se pueden agrupar en el grupo 1 según el contenido de FDN, pero su contenido de energía fue menor al esperado; se puede deber a que la lignina fue una limitante en la expresión del potencial de las leguminosas, ya que este componente químico tiene un efecto en la reducción en la adherencia de los microorganismos ruminales con las partículas de forraje (Paya et al. 2007).

Gemeda y Hassen (2014) determinaron la EM de diferentes especies de gramíneas perennes tropicales a partir de la PG. Estos autores obtuvieron estadísticamente ($p < 0,05$) una concentración energética en promedio mayor a los alimentos analizados en esta investigación (2,35 vs. 2,14 Mcal/kg MS). Las variables que utilizaron los autores mencionados para estimar la EM fueron la PG a las 24 h y la PC. La PG aproximada estuvo en el rango entre 10,00 y 40,00 ml/400 mg MS, mientras que en este estudio se encontraba entre 16,82 y 67,33 ml/500 mg MS.

La PC también fue superior en esta investigación, siendo 13,26% contra 5,25% de PC. Los datos de EM no son reflejados por la composición química de los materiales analizados, debido a que en la presente investigación la FDN fue de 58,85% mientras que los autores mencionados obtuvieron en promedio 75,38% de FDN; para la lignina y la FDA también fue menor en este estudio. La composición química de los alimentos no tuvo ningún efecto sobre la EM, por lo que las diferencias en la concentración energética se pueden deber a factores metodológicos a la hora de calcular la energía.

Para el caso de los ensilajes, el ensilaje de maralfalfa con 45% de guineo y el de maralfalfa, presentaron mayor y menor energía, respectivamente para las tres ecuaciones. En el cuadro 14 se encuentra un resumen de los valores energéticos de los ensilajes y del subproducto de piña.

Cuadro 15. Energía metabolizable de los ensilajes y subproducto con la metodología de producción de gas.

	n	Mcal/kg MS		
		Menke et al. (1979)*	Seker (2002)*	2a*
Ensilajes				
Cratylia	1	2,03	2,13	2,22
Sorgo	2	1,81-1,97 (1,89)	2,12-2,20 (2,16)	1,97-2,04 (2,00)
Sorgo+pulpa de piña	1	2,28	2,50	2,20
Maralfalfa	1	1,24	1,90	1,88
15% guineo	1	1,87	2,27	1,96
30% guineo	1	2,14	2,30	2,14
45% guineo	1	2,64	2,54	2,23
Subproducto				
Subproducto de piña	1	2,79	2,70	2,12

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

Magalhães et al. (2010) determinaron la energía de diferentes tipos de ensilajes, obteniendo valores inferiores a los de esta investigación para ensilajes de caña de azúcar, de soya, de mombaza y de maíz, con 1,31; 1,54; 1,16 y 1,95 Mcal/kg MS, respectivamente. La concentración de FDN en los ensilajes rondaban entre 46,27 y 77,18%, mientras los de este estudio entre 45,9 y 64,16%. Aunque se esperarían valores de energía similares, el efecto de la lignina pudo ocasionar que los ensilajes analizados en el presente estudio tuvieran una mayor concentración de energía (4,86% vs 7,58%), ya que este componente pudo disminuir la degradación de los alimentos en el estudio realizado por los autores mencionados.

5.2.4. Desarrollo de ecuaciones de regresión para estimar el valor energético a partir de la técnica de producción de gas

Para la obtención de las diferentes ecuaciones de predicción de la EM a partir de la producción de gas, se utilizó una regresión lineal múltiple. En el cuadro 15 se muestra las diferentes ecuaciones que presentaron coeficientes de regresión mayores. Seguido de cada ecuación del NRC se obtuvieron dos ecuaciones: una para todos los alimentos (forrajes, ensilajes y subproducto) y otra solamente para los forrajes. A continuación, se detallan las diferentes ecuaciones obtenidas.

Cuadro 16. Ecuaciones para estimar el valor energético de forrajes, ensilajes y subproductos a partir de diferentes variables.

Ecuación No.	Ecuación (EM= Mcal/kg MS; PG=ml/500 mg MS en 24 h; PC, EE, FDN, L=% MS)	R ² %	N
NRC (1989)			
1a	EM= 2,42+(0,01*PG)+(0,05*EE)+(-0,01*FDN)	0,57	56
1b	EM=2,47+(0,01*PG)+(0,05*EE)+(-0,01*FDN)	0,61	47
NRC (2001)			
2a	EM=2,36+(0,0048*PG)+(0,02*PC)+(-0,01*FDN)+(-0,02*L)	0,72	56
2b	EM=2,31+(0,01*PG)+(0,01*PC)+(-0,01*FDN)+(-0,02*L)	0,73	47

1a= Todos los alimentos (forrajes, ensilajes y subproducto); 1b= Forrajes; 2a= Todos los alimentos (forrajes, ensilajes y subproducto); 2b= Forrajes; PG= Producción de gas; PC= Proteína cruda; FDN= Fibra detergente neutro; L= Lignina; EE= Extracto etéreo.

5.3. Análisis de correlación entre la EM obtenida de la metodología de producción de gas y la ecuación del NRC

Se estimó el coeficiente de correlación lineal entre las ecuaciones para estimar la EM a partir de la producción de gas a las 24 h y las ecuaciones del NRC de los años 2001 y 1989, según los valores obtenidos de todos los alimentos utilizados en esta investigación.

Con la metodología que se detalla en el NRC (1989) se obtuvo que las ecuaciones con coeficientes de correlación mayores fueron la de Seker (2002), Menke y Steingass (1988) (16e) y 1a. Entre la metodología del NRC (1989) y la técnica de producción de gas empleando la ecuación de Seker (2002) y Menke y Steingass (1988)

(16e) se obtuvo un coeficiente de correlación lineal de 0,71 y 0,68 ($p < 0,05$), respectivamente (Cuadro 16).

Cuadro 17. Análisis de correlación lineal entre la ecuación del NRC (1989) y la técnica de producción de gas.

	NRC (1989) (R^2)	p-valor
Seker (2002)	0,71	7,0E-10
(16e) ¹	0,68	5,8E-09
1a	0,75	4,0E-11

¹Menke y Steingass (1988). Ecuación 3.8.

1a= EM= 2,42+(0,01*PG)+(0,05*EE)+(-0,01*FDN)

La ecuación 1a presentó un coeficiente de correlación de 0,75, con un valor de p asociado a la prueba de 4,0E-11, siendo la ecuación con la asociación más alta entre variables (Cuadro 16).

La diferencia en la energía calculada a partir de la ecuación del NRC (1989) y las ecuaciones de Seker (2002) y Menke y Steingass (1988) 16e fue en promedio 0,08 y 0,50 Mcal/kg MS mayor que la del NRC (1989), respectivamente. La posible subestimación en el resultado se pudo deber a la poca movilidad de los frascos durante el experimento de producción de gas, ya que como indica Relling y Mattioli (2003) existen patrones de actividad motora en el retículo-rumen que permiten la mezcla del contenido. Al ocurrir esto, se facilita el contacto entre el alimento y los microorganismos, ayudando a la fragmentación del alimento y mayor degradación debido a la actividad enzimática microbiana y a la mayor producción de ácidos grasos volátiles; lo que finalmente aumentaría el contenido energético en los alimentos.

Cuando se realizó el análisis de correlación entre las ecuaciones de forrajes, el coeficiente aumentó a 0,72; 0,71 y 0,78 ($p < 0,05$) para la ecuación del NRC (1989) y las ecuaciones de Seker (2002), Menke y Steingass (1988) (16e) y 1b, respectivamente.

En dos de las tres ecuaciones que presentaron el coeficiente de correlación más alto (Seker 2002; Menke y Steingass [1988] 16e), la proteína cruda fue una de las

variables de predicción de la energía. Según Weiss (1993), a pesar de que la PC es una fracción uniforme en la composición de los alimentos, no es un indicador preciso de la disponibilidad de la energía ya que constituye una fracción muy pequeña (de 5 a 25%) del forraje total, y además la variabilidad de la digestibilidad de la fracción no proteica puede ser alta.

Al analizar la energía metabolizable obtenida por la ecuación del NRC (1989) y la ecuación del 2001, se encuentran diferencias en el valor obtenido, habiendo una correlación entre ambas ecuaciones de 0,87 ($p < 0,05$). El promedio de diferencia entre ambas ecuaciones es de 0,09 Mcal/kg MS, con tendencia a ser mayor con la ecuación de 1989. Al encontrarse estas diferencias, se analizó las ecuaciones de producción de gas que más se correlacionan con la ecuación del NRC (2001).

Las ecuaciones de predicción de la EM a partir de la producción de gas que más se correlacionan con la ecuación del NRC (2001) fueron la de Menke et al. (1979), Seker (2002) y 2a (Cuadro 17).

Cuadro 18. Análisis de correlación lineal entre la ecuación del NRC (2001) y la técnica de producción de gas.

	NRC (2001) (R^2)	p-valor
Menke et al. (1979)	0,77	3,3E-12
Seker (2000)	0,80	0,00
2a	0,83	0,00

$$2a = EM = 2,36 + (0,0048 * PG) + (0,02 * PC) + (-0,01 * FDN) + (-0,02 * L)$$

Al hacer el análisis de correlación solo para los forrajes, el coeficiente de correlación aumentó para la ecuación de Menke et al. (1979), Seker (2002) y 2b a 0,81; 0,84 y 0,84 ($p < 0,05$), respectivamente, siendo una correlación alta entre las ecuaciones.

En un estudio realizado en Brasil, se comparó varias metodologías *in vitro* para estimar la energía metabolizable de alimentos voluminosos utilizados en el trópico, utilizando metodologías *in vivo* por medio de la recolección de excretas; las metodologías *in vitro* del NRC (2001) y la técnica de producción de gas de Menke y

Steingass (1988). Los investigadores concluyeron que los métodos *in vitro* subestiman la EM de los forrajes tropicales, pero el sistema sumativo del NRC (2001) estuvo entre las metodologías que presentó una estimación más precisa de la EM (Magalhães et al. 2010).

Campos et al. (2010) evaluaron la digestibilidad de los carbohidratos no fibrosos de alimentos voluminosos como caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), ensilaje de pasto elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum), ensilaje de maíz y ensilaje de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) con la ecuación del NRC (2001) y encontraron que la ecuación sobreestimó los valores observados que se realizó por medio de la recolección de heces.

Azevêdo et al. (2011) utilizaron el modelo del NRC (2001) y observaron que la metodología no era exacta ni precisa para estimar los valores de la digestibilidad de la FDN de subproductos agrícolas, lo que indica una limitación en su uso por la alta concentración de los componentes fibrosos en productos tropicales.

De igual forma Rocha et al. (2003) realizaron un estudio para validar el método del NRC (2001), y encontraron que no hubo diferencias significativas entre los valores obtenidos a partir de la ecuación del NRC y los valores observados de varios alimentos utilizados en condiciones brasileñas, pero que para los alimentos voluminosos la ecuación subestimaba la energía disponible de la FDN y la digestibilidad del EE, por lo que otras ecuaciones son necesarias para estimar la energía disponible de estas fracciones.

A pesar de que el uso de la ecuación del NRC (2001) en condiciones tropicales tiene discrepancias entre autores, es una ecuación que tiene una alta correlación con los valores que se encuentran en análisis *in vivo* de la disponibilidad energética. En esta investigación se ha logrado desarrollar dos ecuaciones (2a y 2b) que pueden predecir la EM a partir de la producción de gas que presenta una correlación de 0,83 y 0,84 con la ecuación del NRC (2001), respectivamente.

De acuerdo con la técnica de producción de gas, varios autores comentan que la principal ventaja es ser aplicable a cualquier alimento, incluyendo a alimentos tropicales. En Brasil el modelo subestimó la EM de los forrajes *in vivo*, no obstante, cuando se aumentó el período de incubación fue más precisa la predicción que con tiempos de incubación menor (EM, 24h<EM, 48h<EM, 72h) (Magalhães et al. 2010). Los mismos autores hacen referencia a que la técnica se ve afectada por la fuente del inóculo, la dieta, tiempo de incubación, el período de recolecta, el forraje incubado, el equipo utilizado para la medición del gas y el tamaño de partícula; estos podrían afectar la producción de gas

Detmann et al. (2005) concluyeron que la limitante en la metodología de producción de gas *in vitro* para simular la degradación ruminal, es que no permite una simulación precisa de la dinámica del tránsito ruminal, ya que la utilización de tasas de digestión obtenidas *in vitro* sub y sobreestimaron la degradación ruminal de los carbohidratos fibrosos y los carbohidratos no fibrosos, respectivamente.

5.4. Ecuación de mejor ajuste

La ecuación determinada en esta investigación (2a) (Cuadro 17) fue la que presentó el mayor coeficiente de correlación comparado con el modelo sumativo del NRC (2001). Cuando se consideraron todos los alimentos. Esta ecuación se diferencia de las otras en que utiliza la FDN, la lignina y PC como variables para predecir la energía en lugar del EE (Cuadro 18). Ferro et al. (2013) hacen énfasis en que, de los diferentes componentes de los alimentos, la fracción fibrosa es importante en los sistemas de producción tropicales, debido a que representa una cantidad significativa de energía a bajo costo y presenta una variabilidad mayor que otros componentes, por lo que debe de contemplarse para la predicción de la energía.

Cuadro 19. Componentes nutricionales utilizados en las diferentes ecuaciones para estimar el contenido de energía metabolizable a partir de la PG.

Ecuación	PC	EE	FDN	L	PG24h
Menke et al. (1979)	x	x			x
Seker (2002)	x	x			x
Presente investigación ¹	x		x	x	x

¹= 2a y 2b

Según Ferro et al. (2013), de los componentes químicos de un forraje, la proteína cruda y el extracto etéreo se correlacionan positivamente con la concentración energética del alimento, debido a que dichos componentes presentan una correlación moderada y muy baja con la energía metabolizable obtenida con la ecuación de 2a (PC, 0,76; EE, 0,34; $p < 0,05$), respectivamente. Asimismo, las fracciones fibrosas como la FDN y FDA presentan una correlación negativa con la disponibilidad energética, lo cual coincide con este experimento (-0,75, FDN; -0,63, FDA; $p < 0,05$). La lignina, por su parte, tuvo un coeficiente de correlación de -0,24; por lo que al aumentar la lignina disminuye la concentración energética en el forraje.

A continuación, se muestra el análisis de regresión (Figura 7) entre la energía obtenida a partir del método del NRC (2001) y la ecuación 2a; lo cual indica que por cada aumento en una unidad en la EM por la ecuación 2a, aumenta 0,79 Mcal/kg MS la energía estimada por la ecuación del NRC.

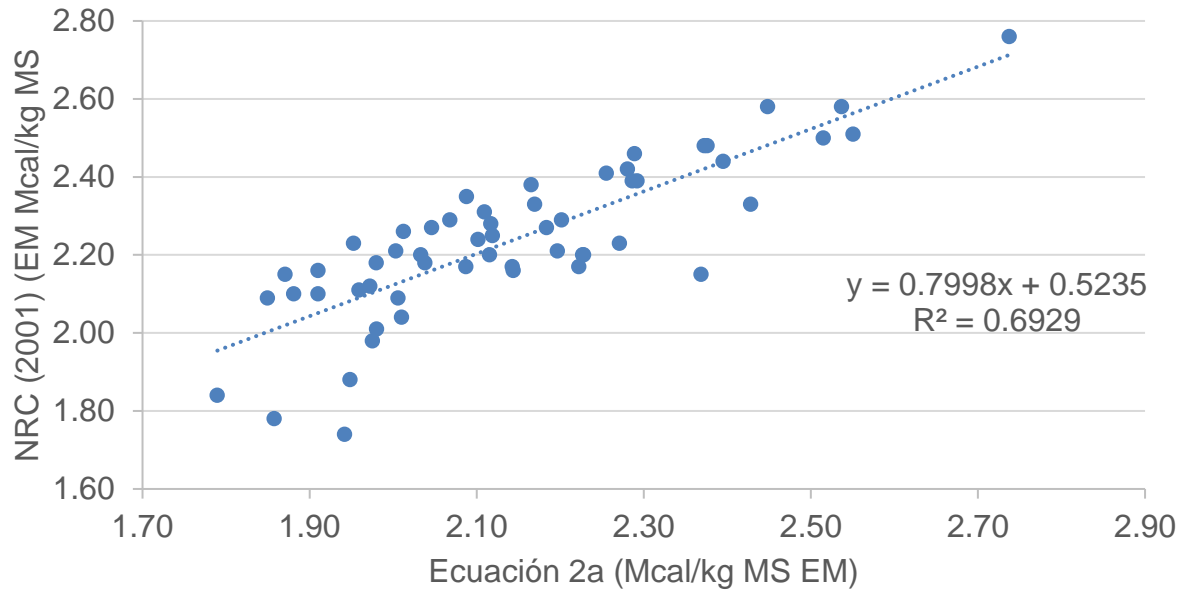


Figura 7. Análisis de regresión entre la ecuación 2a y la del NRC (2001).

También se cuantificó la relación entre las variables (EM Mcal/kg MS) del NRC (2001) y la ecuación de Seker (2001) que fue la ecuación que presentó junto con la ecuación 2b mayor correlación cuando solo se utilizaron forrajes, caso contrario que la ecuación de Seker (2001) presentó mayor coeficiente de regresión. El R^2 entre las dos regresiones simples son bastantes similares, lo cual explica que podemos mejorar en un 70% los pronósticos sobre la energía metabolizable a través del NRC (2001) (Figura 8).

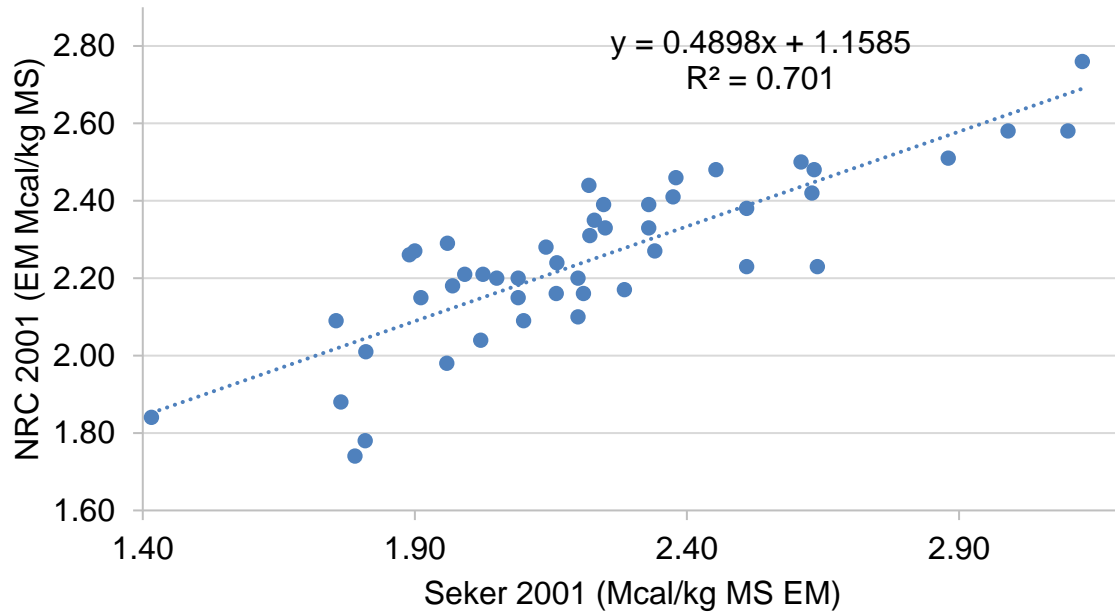


Figura 8. Análisis de regresión entre la ecuación de Seker (2001) y la del NRC (2001).

Debido a las diversas ventajas que tiene la técnica *in vitro* vs. la *in vivo* en su metodología, es importante contar con una ecuación que ayude a predecir la energía de una manera sencilla, económica y que se pueda realizar en menos tiempo. Las ecuaciones generadas en esta investigación (2a y 2b) presentan un R^2 ligeramente alto, generadas con valores de PG 24h, PC, lignina y FDN.

Estas ecuaciones fueron creadas con un número de muestras entre 56 y 47, incluyendo forrajes, ensilajes y subproductos. Los datos obtenidos pueden ser la base para futuros trabajos con la técnica de producción de gas en Costa Rica, siendo un método valioso y de gran relevancia para seguir explorando.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La fibra detergente neutro fue el componente químico-bromatológico con mayor impacto en la producción de gas y el contenido energético de los alimentos analizados.
- La energía metabolizable de los diferentes alimentos obtenida por medio de la ecuación del NRC (2001) comparada con otros estudios fue en algunos pastos más alta y en otros pastos presentó un comportamiento similar al obtenido por otros investigadores.
- La energía metabolizable obtenida a través de la ecuación 2a y la producción de gas a las 24 h (ml/500mg MS), presentó valores similares comparada con otras investigaciones según el contenido de FDN en los forrajes.
- Se desarrollan ecuaciones a partir de la metodología de producción de gas (1a, 1b, 2a y 2b), para determinar el contenido energético de forrajes y ensilajes. Las ecuaciones desarrolladas en esta investigación a partir de la producción de gas, son una alternativa para predecir el contenido energético de forrajes y ensilajes, teniendo menor costo económico que la metodología del NRC (2001).
- En futuros estudios es necesario analizar las ecuaciones desarrolladas en esta investigación y probarlas en diferentes alimentos.
- Debido a que la curva de producción de gas tiene un comportamiento sigmoideal, se recomienda en futuras investigaciones aumentar el tiempo de incubación y comparar la producción de gas a las 24 horas y en tiempos mayores.
- Para una mayor precisión de la metodología de producción de gas, se recomienda el uso de algún instrumento con agitación orbital, con el fin de aumentar la simulación del ambiente ruminal.

7. LITERATURA CITADA

- ABAŞ I., ÖZPINAR H., KUTAY H., KAHRAMAN R., ESECELI H. 2005. Determination of the metabolizable energy (ME) and net energy lactation (NEL) contents of some feeds in the marmara region by In vitro gas technique. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 29: 751-757.
- AKINFEMI A., ADESANYA A., AYA V. 2009. Use of an *In Vitro* gas production technique to evaluate some nigerian feedstuffs. American-Eurasian Journal of Scientific Reseach. 4(4): 240-245.
- ANDRADE M. 2006. Evaluación de técnicas de manejo para mejorar la utilización del pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst. Ex Chiov.) en la producción de ganado lechero en Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica, Costa Rica. 226 p.
- ANKOM^{RF} GAS PRODUCTION SYSTEM. 2012. Operator's Manual. ANKOM TECHNOLOGY.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 1998. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed, 4th rev. Gaithersburg, MD: AOAC International, USA.
- APARECIDA M. 2012. Avaliação químico-bromatológica e fracionamento de carboidratos e compostos nitrogenados de forrageiras herbáceas no semeárido nordestino. Tesis de licenciatura. Universidade Estadual da Paraíba. 18 p.
- AZEVÊDO J., VALADARES FILHO S., DETMANN E., PINA D., PEREIRA L., OLIVEIRA K., FERNANDES H., SOUZA N. 2011. Predição de frações digestíveis e valor energético de subprodutos agrícolas e agroindustriais para bovinos. Revista Brasileira de Zootecnia. 40(2): 391-402.
- BAKHASHWAIN A., SALLAM S., ALLAM A. 2010. Nutritive value assessment of some Saudi Arabian foliages by gas production technique *in vitro*. Met. Env. & Arid Land Agric. Sci. 21(1):65-80.
- BALL D., COLLINS M., LACEFIELD G., MARTIN N., MERTENS D., OLSON K., PUTNAM D., UNDERSANDER D., WOLF M. 2001. Understanding forage quality. American Farm Bureau Federation Publication 1-01. Park ridge, Illinois.
- BEUVINK J. SPOELSTRA S. 1992. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different

- carbohydrates by mixed rumen microorganisms in vitro. *Applied and Environmental Microbiology*. 37: 505-509.
- BEUVINK J., SPOELSTRA S., HOGENDORP R. 1992. An automated method for measuring time course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid. *Netherlands Journal of Agricultural Sciences*. 40:109-119.
- BOGA M., YURTSEVEN S., KILIC U., AYDEMIR S., POLAT T. 2014. Determination of nutrient contents and *In vitro* gas production values of some legume forages grown in the harran plain saline soils. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 27(6): 825-831.
- BORBA A., GONÇALVES P., VOUZELA C., REGO O., BORBA A. 2000. Effect of donor feeding in the use of alternative sources of inocula in the prevision of digestibility by the gas production method. *Revista Portuguesa de Zootecnia*. 1: 43-50.
- BOSCHINI-FIGUEROA C. 2006. Nutrientes digeribles, energía neta y fracciones proteicas de la morera (*Morus alba*) aprovechables en vacas lecheras. *Agronomía Mesoamericana*. 17(2): 141-150.
- BRUNI M., TRUJILLO A., FACCHÍN L., SARAGÓ L., CHILIBROSTE P. 2014. Evaluación nutricional para rumiantes de la burlanda de sorgo húmeda obtenida de la producción de etanol de ALUR Paysandú. *Cangue*. 35: 28-38
- CAMPOS P., VALADARES S., DETMANN E., CECON P., LEÃO M., LUCCHI B., SOUZA S., PEREIRA O. 2010. Consumo, digestibilidade e estimativa do valor energético de alguns volumosos por meio da composição química. *Rev. Ceres, Viçosa*. 57(1): 79-86.
- CERRILLO M., JUAREZ A. 2004. In vitro gas production parameters in cacti and tree species commonly consumed by grazing goats in a semiarid region of North Mexico. *Lives. Res. Rural Develop.* 16:4 (Edición en línea).
- CERRILLO M., JUÁREZ A., RIVERA J., GUERRERO M., RAMÍREZ R., BERNAL H. 2012. Producción de biomasa y valor nutricional del forraje verde hidropónico de trigo y avena. *INTERCIENCIA*. 37(12): 906-913.
- CONRAD H., WEISS W., ODWONGO W., SHOCKEY W. 1984. Estimating net energy of lactation from components of cell solubles and cell walls. *Journal of Dairy Science*. 67(2): 427-436.

- CORREA H. 2001. El modelo NRC 2001. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. 21 p.
- CUARTAS C., NARANJO J., TARAZONA A., BARAHONA R. 2013. Uso de la energía en bovinos pastoreando sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala* y su relación con el desempeño animal. Rev CES Med Zootec. 8(1):70-81.
- DE BLAS C., MATEOS G., GARCÍA-REBOLLAR P. 2010. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (3ª edición). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid. 502 pp.
- DETMANN E., PAULINO M., CABRAL L., VALADARES FILHO S., CECON P., ZERVOUDAKIS J., LANA R., LEÃO M., MELO A. 2005. Simulation and validation of digestive kinetic parameters using an in vitro gas production system in crossbred steers with pasture supplementation. R. Bras. Zootec. 34(6):2112–2122.
- DETMANN E., TILEMAHOS J., SILVA L., RIBEIRO V., JÚNIOR R., VALADARES S., QUEIROZ A., PONCIANO N., MAGNO A. 2004. Validação de equações preditivas da fração indigestível da fibra em detergente neutro em gramíneas tropicais. R. Bras. Zootec. 33(6): 1866-1875.
- DI RIENZO J., CASANOVES F., BALZARINI M., GONZALEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C. 2014. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- EVITAYANI L., WARLY A., FARIANI T., FUJIHARA T. 2004. Study in nutritive value of tropical forages in North Sumatra, Indonesia. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 17(11): 1518-1523.
- FERRO M., AVELINO C., MOURA A., MOURA D., dos SANTOS J. 2013. Estimativas do valor energético de alimentos para bovinos de corte em condições tropicais: conceitos e aplicações. Enciclopédia Biosfera. 9(16): 1115- 1130.
- FLORES G. 2004. Factores que afectan a la calidad del ensilaje de hierba y a la planta de maíz forrajero en Galicia y evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de estos forrajes ensilados. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España. 315 p.

- GEMEDA B., HASSEN A. 2014. *In vitro* fermentation, digestibility and methane production of tropical perennial grass species. *Crop and Pasture Science*. 65(5): 479-488.
- GETACHEW G., BLÜMMEL M., MAKKAR H., BECKER K. 1998. *In vitro* measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 72: 261-281.
- GETACHEW G., ROBINSON P., DEPETERS E., TAYLOR S. 2004. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 111: 57-71.
- GIRALDO L., GUTIÉRREZ L., SÁNCHEZ J., BOLÍVAR P. 2006 Relación entre presión y volumen para el montaje de la técnica *in vitro* de producción de gas en Colombia. *Livestock Research for Rural Development*. 18(6). (Edición en línea).
- HINOJOSA Y., YÉPEZ N., RODAL C., RÍOS O., CLAROS B., SUÁREZ N., JIMÉNEZ L. 2014. Producción y características agronómicas de cuatro variedades de pasto de corte del género *Pennisetum*, en Trinidad, Bolivia. *Agrociencias Amazonia*. 3: 28-35.
- HOFFMAN P., LUNDBERG K., BAUMAN L., SHAVER D. 2014. Digestibilidad *in vitro* del FDN (fibra detergente neutro): El debate de 30 vs 48 horas. *Focus on Forage*. 5(16): 1-4.
- HUNGATE R. 1966. *The rumen and its microbes*. Academic Press, New York, NY, USA.
- JOUANY J., THIVEND P. 1986. *In vitro* effect of avoparcin on protein degradability and rumen fermentation. *Animal Feed Sciences and Technology*. 15:215-229.
- KAMALAK A., CANBOLAT O. 2010. Determination of nutritive value of wild narrow-leaved clover (*Trifolium angustifolium*) hay harvested at three maturity stages using chemical composition and *in vitro* gas production. *Tropical Grasslands*. 44: 128-133.
- KARABULUT A., CANBOLAT O., KALKAN H., GURBUZOL F., SUCU E., FITYA I. 2007. Comparison of *In vitro* gas production, metabolizable energy, organic matter digestibility and microbial protein production of some legume hays. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20(4): 517-522.

- KNOLES M., PABÓN M., CARULLA J. 2012. Use of cassava (*Manihot esculenta Crantz*) and other starchy non-conventional sources in ruminant feeding. Rev. Colomb. Cienc. Pecu. 25: 488-499.
- KRISHNAMOORTHY U., SOLLER H., STEINGASS H., MENKE K. 1995. Energy and protein evaluation of tropical feedstuffs for whole tract and ruminal digestion by chemical analyses and rumen inoculum studies in vitro. Animal Feed Science and Technology. 52: 177-188.
- LARA P., CANCHÉ M., MAGAÑA H., AGUILAR E., SANGINÉS J. 2009. Producción de gas in vitro y cinética de degradación de harina de forraje de morera (*Morus alba*) mezclada con maíz. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 43(3): 273-279.
- LARGUERO S. 2011. Predicción de la energía neta de lactación de ensilajes de sorgo y maíz. Tesis de Maestría. Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 54 p.
- LEE M., HWANG S., WEN-SHYG CHIOU P. 2000. Metabolizable energy of roughage in Taiwan. Small Rum. Res. 36: 251-259.
- LEÓN M., MARTÍNEZ S., PEDRAZA R., GONZÁLEZ C., BARRETO G. 2012. Correlación entre energía metabolizable calculada y producción de gas *in vitro* con heces depuestas como inóculo. Rev. Prod. Anim. 24(2): 1-4.
- LICITRA G., HERNÁNDEZ T., VAN SOEST P. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 57(4): 347-358.
- LISTA F., SILVA J., DETMANN E., VASQUEZ H., MALAFAIA P. 2008. Estimación do valor energético da pastagem e simulação de parâmetros do desempenho produtivo de novilhas em pasto. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 60(1): 130-138.
- LUNDBERG K., HOFFMAN P., BAUMAN L., BERZAGUI P. 2004. Prediction of forage energy content by near infrared reflectance spectroscopy and summative equations. The Professional Animal Scientist. 20: 262-269.
- MAGALHÃES A., VALADARES S., DETMANN E., DINIZ L., PINA D., AZEVÊDO J., ARAÚJO F., MARCONDES M., FONSECA M., TEDESCHI L. 2010. Evaluation of indirect methods to estimate the nutritional value of tropical feeds for ruminants. Animal Feed Science and Technology. 155: 44-54.

- MCBEE R. 1953. Manometric method for the evaluation of microbial activity in the rumen with application to utilization of cellulose and hemicelluloses. *Applied and Environmental Microbiology* 1: 106-110.
- MENDOZA-MARTÍNEZ G., PLATA-PÉREZ F., ESPINOSA-CERVANTES R., LARA-BUENO A. 2008. Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo*. 24(1): 75-87.
- MENKE K., RAAB L., SALEWSKI A., STEINGASS H., FRITZ D., SCHNEIDER W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agric. Sci. Camb.* 93: 217-222.
- MENKE K., STEINGASS H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28: 7-55.
- NASCIMIENTO J. 1997. Valor nutritivo das pastagens tropicais. Vicoso. Página consultada: 28 abril 2016.
<http://forragicultura.com.br/arquivos/valornutritivopastagenstropicais.pdf>
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). 1989. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th rev. ed. Update 1989. Washington D.C.: National Academy Press.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). 1996. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. Ed. Washington, D.C. National Academy Press. 242 p.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. Ed. Washington, D.C. National Academy Press. 381 p.
- OLIVEIRA E. 2011. Digestão de lipídeos em ruminantes. Seminário apresentado pelo aluno ELIO RAVAZI DE OLIVEIRA na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDOANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- OLIVEIRA V., VALENÇA R., SANTANA-NETO J., SANTANA J., SANTOS C., LIMA I. 2014. Utilização da Técnica de produção de gás *In vitro* para estimar a digestibilidade dos alimentos. *Revista Científica de Medicina Veterinária*. XII (23). 10 p.
- PAYA H., TAGHIZADEH A., JANMOHAMMADI H., MOGHADAM G. 2007. Nutrient digestibility and gas production of some tropical feed used in ruminant diets

estimated by the *in vivo* and *in vitro* gas production techniques. American Journal of Animal and Veterinary Sciences. 2(4): 108-113.

PETERS K. 2008. Valor Nutricional y Disponibilidad de biomasa del pasto kikuyo (*Kikuyuochloa clandestina* Hochst. Ex Chiov.) en sistemas de pastoreo basados en la edad fenológica de la planta. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica, Costa Rica. 108 p.

PIRELA M. 2005. Valor nutritivo de los pastos tropicales, pp. 176-182. In: C. González-Stagnaro y E. Soto (eds). Manual de ganadería doble propósito. Fundación GIRARZ.

POSADA S., NOGUERA R. 2005. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Livestock research for Rural Development. 17(4). (Edición en línea).

POSADA S., NOGUERA R. 2007. Comparación de modelos matemáticos: una aplicación en la evaluación de alimentos para animales. Rev. Col. Cienc. Pec. 20: 141-148.

POSADA S., ROSERO R., RODRÍGUEZ N., COSTA A. 2012. Comparación de métodos para la determinación del valor energético de alimentos para rumiantes. Rev. MVZ Córdoba. 17(3): 3184-3192.

RELLING A., MATTIOLI G. 2003. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Editorial EDULP. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. 72 p.

ROBINSON P., COLLAR C., NADER G., PUTNAM D. 2004a. The 2004 UC Davis recommended forage energy prediction equations. University of California, Davis.

ROBINSON P., GIVENS D., GETACHEW G. 2004b. Evaluation of NRC, UC Davis and ADAS approaches to estimate the metabolizable energy values of feeds at maintenance energy intake from equations utilizing chemical assays and *in vitro* determinations. Animal Feed Science and Technology. 114: 75-90.

ROCHA V., VALADARES S., BORGES Á., DETMANN E., MAGALHÃES K., VALADARES R., GONÇALVES L., CECON P. 2003. Estimativa do valor energético dos alimentos e validação das equações propostas pelo NRC (2001). R. Bras. Zootec. 32(2): 480-490.

- RODRÍGUEZ-RAMÍREZ M., GONZÁLEZ-SOTELO A., YÁÑEZ-MUÑOZ A., SILVA-LUNA M., GÓMEZ-ESCOBAR C. 2013. Composición química de recursos forrajeros para la alimentación de ovinos en Colima. INIFAP, CIRPAC. Campo Experimental Tecomán. Folleto técnico No. 3. Tecomán, Colima, México.
- ROMERO L. 2008. Pasturas templadas y tropicales. XXI Curso Internacional de Lechería para Profesionales de América Latina. INTA, Rafaela Santa Fe, Argentina. 37-60 p.
- ROSENDO O., FREITEZ L., LÓPEZ R. 2013. Ruminant degradability and summative models evaluation for total digestible nutrients prediction of some forages and byproducts in goats. *ISRN Veterinary Science*. 2013: 1-8.
- RYMER C., HUNTINGTON J., WILLIAMS B., GIVENS D. 2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*. 123: 9-30.
- SALAZAR S. 2007. Disponibilidad de biomasa y valor nutricional del pasto estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*) en el distrito de Quesada, cantón de San Carlos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica, Costa Rica. 96 p.
- SÁNCHEZ J. 2007. Utilización eficiente de las pasturas tropicales en la alimentación del ganado lechero. XI Seminario de Pastos y Forrajes en Sistemas de Producción Animal. Barquisimeto, Venezuela.
- SÁNCHEZ J., SOTO H. 1997. Contenido estimado de energía para la producción de leche de los forrajes del distrito de Florencia, cantón de San Carlos, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 21(2): 273-278.
- SÁNCHEZ J., SOTO H. 1999. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del cantón de San Carlos. III. Energía para la producción de leche. *Nutrición Tropical*. 5(1): 31-49.
- SCHOFIELD P. 2000. Gas production methods. In: D'Mello J.P.F. (ed.). *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. Wallingford (UK). CAB International. 450 p.
- SEKER E. 2002. The determination of the energy values of some ruminant feeds by using digestibility trial and gas test. *Revue Méd. Vét.* 153(5): 323-328.
- SILVEIRA M. 2006. Comparação de métodos *in vivo* e laboratoriais para estimar o valor nutritivo de dietas para bovinos de corte. Tesis de maestría. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil. 60 p.

- SOLLENBERGER L., ADJEI M., BROWN W., QUESENBERRY K., CHAMBLISS C., KUNKLE W. 1997. Floralta Limpograss (*Hemarthria altissima*). Florida Forage Handbook. University of Florida.
- STEINGASS H., MENKE K. 1980. Die bestimmung der verdaulichkeit und der gehalte an umsetzbarer energie und nettoenergie-laktation im Hohenheimer futterwerttest. kraefffutter. 11: 534-536.
- TRIE J., HALE W., THEURER B. 1970. Effect of grain processing on in vitro gas production. Journal Animal Science. 30:825-831.
- VAN SOEST P. 1967. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. Journal of Animal Science. 26(1): 119-128.
- VILLALOBOS L. 2006. Disponibilidad y valor nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) en las zonas altas de Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.127 p.
- VILLALOBOS L., ARCE J. 2014. Evaluación agronómica y nutricional del pasto estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*) en la zona de Monteverde, Puntarenas, Costa Rica. II. Valor nutricional. Agronomía Costarricense. 38(1): 133-145.
- VILLALOBOS L., SÁNCHEZ J. 2010. Evaluación agronómica y nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. II. Valor nutricional. Agronomía Costarricense. 34(1): 43-52.
- WEISS W., 1993. Predicting energy values of feeds. J. Dairy. Sci. 76: 1802-1811.
- WEISS W., CONRAD H., PIERRE N. 1992. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. Animal Feed Science and Technology. 39 (1-2): 95–110.
- WILLIAMS B. 2000. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Givens D I, Owen E, Omed H M and Axford R F E (eds.). Forage evaluation in ruminant nutrition. Wallingford (UK). CAB International. 475 p.

8. ANEXOS

Anexo 1. Composición nutricional de los diferentes forrajes.

	MS	PC	EE	FDN	FDA	NFDN	NFDA	Cenizas	L
	%*	%* MS							
Guinea	23,49-25,51	5,9-12,1	2,0-2,9	68,2-72,0	35,3-39,6	0,5-0,6	0,1-0,2	8,8-10,0	2,2-2,7
Ratana	11,40- 24,48	8,8-14,1	2,0-3,1	60,6-66,4	23,7-42,3	0,8-1,4	0,1-0,2	8,7-11,1	1,8-2,8
Estrella africana	21,74-26,90	10,7-20,6	2,0-4,3	60,2-70,5	25,5-34,9	0,5-1,4	0,1-0,2	7,6-11,8	1,9-2,9
Braquipará	12,00- 21,20	6,6-20,0	2,6-4,7	56,6-69	28,8-36,5	0,34-1,3	0,1-0,2	7,7-11,7	1,5-3,4
Brizantha	20,60- 33,60	9,4-9,7	1,9-3,8	66,8-69,6	25,6-43,2	0,7-0,8	0,1-0,9	11,0-12,1	2,1-2,1
Camerún	11,54- 17,10	8,3-11,9	1,2-2,3	68,7-72,6	30,5-42,6	0,5-0,8	0,2-0,4	11,7-14,2	4,7-5,5
Morera	23,18- 29,40	8,7-15,6	1,9-2,6	50,4-61,7	29,3-44,0	0,5-0,7	0,2-0,3	6,2-8,1	1,6-6,5
Toledo	20,60-33,60	13,5-14,1	3,2-3,9	65,7-65,9	32,0-34,0	0,4-0,6	0,1-0,1	7,8-7,9	2,2-2,5
Kikuyo	13,20- 15,21	19,9-24,3	0,9-4,3	54,6-59,6	24,3-30,0	0,9-1,1	0,1-0,2	11,4-14,5	1,0-1,7

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente.

PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; FDN, fibra detergente neutro; FDA, fibra detergente ácido; NFDN, nitrógeno insoluble en fibra detergente neutro; NFDA, nitrógeno insoluble en fibra detergente ácido; L, lignina.

Continuación. Anexo 1. Composición nutricional de los diferentes forrajes.

	MS	PC	EE	FDN	FDA	NFDN	NFDA	Cenizas	L
	%*	%* MS							
Ryegrass	14,41- 15,52	17,6-25,9	3,0-9,1	37,9-46,6	12,4-24,2	0,6-1,0	0,1-0,3	11,8-13,0	0,7-3,8
Cratylia	22,78- 36,63	18,6-20,1	1,8-8,8	58,0-61,8	26,2-54,9	1,4-1,7	0,5-0,7	5,2-11,1	2,6-16,0
Guinea corte	15,70- 22,91	8,8-12,8	1,9-2,7	63,7-70,3	23,6-56,7	0,5-1,7	0,1-0,3	8,6-15,1	1,9-3,0
Botón de oro	11,63	23,40	2,20	39,80	24,9	2,54	0,69	15,30	9,80
Caña de azúcar	22,94	3,40	1,90	38,30	23,5	0,15	0,07	2,00	2,60
Mulato	14,90- 28,10	6,3-21,3	1,7-3,2	60,8-68,0	31,3-37,8	0,2-0,5	0,1-0,2	9,8-13,4	1,8-3,5
Festulolium	12,17	21,10	5,70	47,80	27,4	0,73	0,13	13,6	0,70
Limpograss	25,90	5,60	2,60	70,50	33,1	0,79	0,20	4,10	3,70
Mombaza	16,00	8,30	2,30	66,60	37,6	0,92	0,21	10,9	2,80

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente.

PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; FDN, fibra detergente neutro; FDA, fibra detergente ácido; NFDN, nitrógeno insoluble en fibra detergente neutro; NFDA, nitrógeno insoluble en fibra detergente ácido; L, lignina.

Anexo 2. Contenido de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (EN_L) y energía neta de ganancia (EN_G) de forrajes.

	NDT	ED	EM	EN _M	EN _L	EN _G
	%*	Mcal/kg MS*				
Guinea n=2	58,78-60,12 (59,45)	2,52-2,62 (2,57)	2,09-2,20 (2,14)	1,24-1,34 (1,29)	1,28-1,35 (1,32)	0,67-0,76 (0,71)
Ratana n=4	59,20-63,84 (61,86)	2,58-2,75 (2,67)	2,16-2,33 (2,25)	1,30-1,46 (1,38)	1,33-1,45 (1,39)	0,73-0,87 (0,80)
Estrella africana n=4	59,74-64,02 (62,22)	2,60-2,83 (2,76)	2,18-2,41 (2,34)	1,32-1,52 (1,46)	1,34-1,50 (1,46)	0,74-0,93 (0,88)
Braquipará n=5	60,91-66,49 (62,99)	2,57-2,89 (2,72)	2,29-2,48 (2,30)	1,29-1,58 (1,42)	1,32-1,56 (1,43)	0,72-0,98 (0,84)
Cratylia n=3	57,40-60,61 (58,95)	2,63-2,70 (2,65)	2,21-2,27 (2,24)	1,35-1,40 (1,37)	1,36-1,41 (1,39)	0,77-0,82 (0,79)
Brizantha n=2	53,38-61,35 (57,36)	2,30-2,69 (2,49)	1,88-2,27 (2,07)	1,03-1,40 (1,22)	1,13-1,40 (1,27)	0,48-0,82 (0,65)

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

Continuación. Anexo 2. Contenido de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (EN_L) y energía neta de ganancia (EN_G) de forrajes.

	NDT	ED	EM	EN _M	EN _L	EN _G
	%*	Mcal/kg MS*				
Camerún n=3	48,78-49,83 (49,14)	2,17-2,27 (2,21)	1,74-1,84 (1,79)	0,90-1,00 (0,95)	1,03-1,10 (1,07)	0,36-0,45 (0,40)
Guinea corte n=3	54,15-64,16 (57,71)	2,40-2,68 (2,51)	1,98-2,26 (2,08)	1,13-1,39 (1,23)	1,20-1,40 (1,27)	0,57-0,81 (0,66)
Morera n=3	56,34-65,54 (60,21)	2,47-2,72 (2,61)	2,04-2,29 (2,18)	1,19-1,42 (1,32)	1,25-1,42 (1,34)	0,63-0,84 (0,74)
Toledo n=2	63,51-64,25 (63,88)	2,73-2,77 (2,75)	2,31-2,35 (2,33)	1,44-1,47 (1,46)	1,44-1,47 (1,45)	0,85-0,88 (0,87)
Kikuyo n=4	60,34-65,06 (62,95)	2,76-2,90 (2,83)	2,33-2,48 (2,41)	1,46-1,59 (1,53)	1,45-1,56 (1,51)	0,87-0,99 (0,93)
Ryegrass n=4	65,32-73,82 (69,51)	2,92-3,17 (2,99)	2,50-2,76 (2,59)	1,61-1,83 (1,68)	1,57-1,77 (1,64)	1,00-1,20 (1,07)

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje.

Continuación. Anexo 2. Contenido de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (ENL) y energía neta de ganancia (ENG) de forrajes.

	NDT	ED	EM	EN _M	EN _L	EN _G
	%*	Mcal/kg MS*				
Botón de oro n=1	53,68	2,57	2,15	1,29	1,32	0,72
Caña de azúcar n=1	73,83	2,88	2,46	1,57	1,53	0,97
Mulato n=3	56,45-59,88	2,53-2,66	2,10-2,23	1,25-1,37	1,29-1,37	0,68-0,79
	(58,47)	(2,59)	(2,17)	(1,31)	(1,34)	(0,74)
Festulolium n=1	69,61	2,99	2,58	1,68	1,64	1,07
Limpograss n=1	62,13	2,59	2,16	1,30	1,33	0,73
Mombaza n=1	58,04	2,51	2,09	1,24	1,28	0,67

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje

Anexo 3. Contenido de nutrientes digestibles totales (NDT), energía digestible (ED), energía metabolizable (EM), energía neta de lactancia (EN_L) y energía neta de ganancia (EN_G) de ensilajes.

	NDT	ED	EM	EN _M	EN _L	EN _G
	%*					
				Mcal/kg MS*		
Ensilaje de cratylia n=1	54,96	2,60	2,17	1,31	1,34	0,74
Ensilaje de sorgo n=2	60,39- 62,70 (61,55)	2,54- 2,60 (2,57)	2,12- 2,18 (2,15)	1,27- 1,32 (1,29)	1,30- 1,34 (1,32)	0,70- 0,74 (0,72)
Ensilaje de sorgo+pulpa de piña n=1	63,83	2,70	2,29	1,42	1,42	0,83
Subproducto de piña n=1	64,83	2,67	2,25	1,38	1,39	0,80
0% guineo n=1	58,58	2,51	2,10	1,24	1,29	0,67
15% guineo n=1	59,88	2,53	2,11	1,25	1,30	0,69
30% guineo n=1	62,40	2,59	2,17	1,31	1,33	0,73
45% guineo n=1	64,15	2,63	2,20	1,34	1,36	0,76

*Primer y segundo valor hace referencia al mínimo y máximo, respectivamente. El valor en paréntesis es el promedio del forraje