

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
ESCUELA DE POST GRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN



**“EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE UREA Y MELAZA SOBRE LA
DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DEL COGOLLO FRESCO DE CAÑA DE AZÚCAR,
Saccharum officinarum L.”**

M.V. HAYDEÉ RUFINA MARÍA GONZÁLEZ GONZALES

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGÍSTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

Lima, Perú

2013

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto e interacción de tres factores, urea (X_1), melaza (X_2) y cogollo fresco de caña de azúcar de la variedad PCG12-745 (X_3) sobre la digestibilidad *in vitro* del cogollo fresco de caña de azúcar, mediante el modelo estadístico diseño central rotatable de segundo orden. Las proporciones de urea y melaza de los tratamientos fueron designadas por el diseño en relación a los valores máximo, central, y mínimo asignados al modelo: 3, 2 y 1 por ciento; respectivamente. Las proporciones fueron distribuidas en los veinte tratamientos designados por el diseño. Adicionalmente, se introdujo al proceso de digestibilidad *in vitro* muestras sin suplemento. La digestibilidad *in vitro* de los tratamientos fue determinada según la metodología descrita por Tilley & Terry y modificada por Van Soest. El fluido ruminal fue colectado de un ovino fistulado dos horas luego del suministro de heno de alfalfa. Los resultados mostraron que el contenido de materia seca, proteína cruda, FDA, y coeficiente de digestibilidad *in vitro* de la materia seca del cogollo de caña de azúcar sin suplemento fueron 43,94; 7,02; 48,23 y 41,79 por ciento, respectivamente. Los valores de los coeficientes de digestibilidad *in vitro* de los tratamientos fueron introducidos al modelo establecido y analizados mediante el programa estadístico SAS. El coeficiente de digestibilidad *in vitro* promedio de la materia seca de los tratamientos con suplemento fue 43,05 por ciento. La ecuación cuadrática del modelo de segundo orden obtenida fue: $Y = 42.394 + 0.399X_1 + -0.965X_2 + 1.769X_3 + 1.265X_1^2 + -0.137X_2^2 + 1.583X_3^2 + 0.729X_1X_2 + 0.249X_1X_3 + -1.210X_2X_3$. El punto estacionario determinado por el diseño central rotatable fue: $X_{1s}=0,031$, $X_{2s}= -0,625$, $X_{3s}= -1,180$; equivalentes a los valores reales; 2,015; 1,688 y 97,180; respectivamente. La respuesta (Y_s) para el punto estacionario fue 41,956. A partir del punto estacionario y de información obtenida por el programa estadístico se dedujo la siguiente ecuación canónica: $\bar{Y} = 41,956 + 1,775 \omega_1^2 + 1,353\omega_2^2 - 0,416 \omega_3^2$, donde se observa que la digestibilidad del cogollo aumenta al incrementarse los niveles de urea y melaza. Considerando como variable constante X_{3s} del punto estacionario (cogollo de caña de azúcar), se obtuvo la gráfica de superficie de respuesta de tipo minimax y los respectivos coeficientes de digestibilidad *in vitro* aproximados, mediante los cuales se observó que el coeficiente de digestibilidad *in vitro* del cogollo es alto en el mínimo nivel de suplementación de urea y melaza del experimento, luego decrece y aumenta progresivamente a partir de una proporción de 2,5 por ciento de urea y con el aumento simultáneo de la proporción de melaza hasta alcanzar el máximo valor con los niveles más altos de suplementación de urea y melaza. Los tratamientos del experimento no presentaron diferencia estadística significativa. Sin embargo, se observó variabilidad en las repeticiones establecidas por el modelo, la cual está asociada a factores diferentes a las proporciones de suplementación establecidas, como el fluido ruminal, las características intrínsecas del cogollo de caña de azúcar o la interacción de ambos factores.

Palabras claves: Cogollo de caña de azúcar, urea, melaza, digestibilidad *in vitro*, diseño central rotatable de segundo orden, ecuación cuadrática, ecuación canónica, superficie de respuesta, minimax.

SUMMARY

This study evaluated the *in vitro* digestibility of the fresh PCG12-745 strain sugarcane tops. A rotatable central second-order design was applied to analyze the effect of three factors, urea (X_1), molasses (X_2), and fresh sugarcane tops (X_3), and their relationship on the sugarcane tops *in vitro* digestibility. The urea and molasses experimental proportions were established by the statistical design in relation to the maximum, central and minimum values assigned to the model: 3, 2 and 1 percent, respectively. These proportions were distributed into the twenty treatments by the model. In addition, unsupplemented samples were introduced into the experiment. The *in vitro* digestibility was determined according to the Tilley & Terry technique modified by Van Soest. Rumen liquor was collected from a fistulated sheep two hours after the alfalfa hay was fed. The unsupplemented sugarcane tops content of dry matter, crude protein, ADF and dry matter *in vitro* digestibility coefficient were; 43.94, 7.02, 48.23 y 41.79 per cent, respectively. The *in vitro* digestibility coefficients of the treatments were introduced in the established model and were analyzed through the SAS statistical program. The average dry matter *in vitro* digestibility coefficient of the supplemented treatments was 43.05 percent. The model quadratic equation was: $Y = 42.394 + 0.399X_1 + -0.965X_2 + 1.769X_3 + 1.265X_1^2 + -0.137X_2^2 + 1.583X_3^2 + 0.729X_1X_2 + 0.249X_1X_3 + -1.210X_2X_3$. The stationary point determined by the central rotatable second order design was: $X_{1S}=0.031$, $X_{2S}= -0.625$, $X_{3S}= -1.180$; where the corresponding real values were 2.015; 1.688 and 97.180, respectively. The stationary point response (Y_S) was 41.956. The stationary point and SAS statistical data allowed deduction of the following canonic equation: $\bar{Y} = 41,956 + 1,775 \omega_1^2 + 1,353\omega_2^2 - 0,416 \omega_3^2$, where sugarcane tops digestibility increases according to increasing urea and molasses levels. The minimax response surface graph and the respective *in vitro* digestibility coefficients were obtained considering X_{3S} (sugarcane tops) of the stationary point as the constant variable; which allowed to observe that the sugarcane tops *in vitro* digestibility coefficient is high in the minimum urea molasses supplementation level of the experiment, then decreases and increases progressively from 2.5 percent urea proportion with the concurrent molasses proportion increase until the highest *in vitro* digestibility coefficient with the maximum urea molasses supplementation level. There was no statistical significant difference between the treatments of the experiment. Notwithstanding, there was observed variability in the repetitions of the model treatments, which is associated to factors different from the experimental proportions, such the rumen liquor, the sugarcane tops intrinsic characteristics or both of them.

Key words: Sugarcane tops, urea, molasses, *in vitro* digestibility, rotatable central second-order design, quadratic equation, canonic equation, response surface, minimax.

L57,
G65
T
c.1

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN.....	i
SUMMARY.....	ii
INDICE DE CONTENIDO.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	vii
INDICE DE ANEXOS.....	viii
I INTRODUCCIÓN.....	1
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 RESIDUOS DE COSECHA Y SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES.....	3
2.1.1 Los residuos de cosecha y subproductos agroindustriales en el establecimiento de sistemas de alimentación animal tropical y subtropical.....	3
a Reconocimiento de fuentes alimenticias regionales.....	3
b Fuentes alimenticias en regiones tropicales y subtropicales.....	4
c Residuos de cosecha en sistemas de producción integrales.....	5
2.1.2 Valor nutritivo de los residuos de cosecha y subproductos agroindustriales.....	5
a Clasificación de los residuos de cosecha en relación a su digestibilidad.....	6
b Factores asociados al valor nutritivo de residuos de cosecha y subproductos agroindustriales.....	7
2.1.3 Estructura química y su relación con la digestibilidad.....	7
a Complejo celulosa hemicelulosa.....	8
b Factores asociados a la fermentación del complejo celulosa hemicelulosa.....	8
2.1.4 Suplementación de los residuos de cosecha.....	9
a Consideraciones generales en la suplementación.....	9
b Suplementación con minerales.....	11
c Suplementación con nitrógeno no proteico.....	11
d Suplementación con forraje de alta calidad.....	13
e Suplementación con almidón.....	13
2.1.5 Tratamientos de los residuos de cosecha.....	14
a Tratamientos físicos.....	14
Tamaño de la partícula del forraje altamente fibroso.....	14
Molienda del forraje.....	15
Exposición al vapor y presión.....	15
b Tratamientos químicos.....	16
Tratamientos con hidróxidos.....	16
Tratamientos con nitrógeno no proteico.....	17
Observación microscópica de forrajes tratados con álcalis.....	18
c Tratamientos biológicos.....	18
2.2 METABOLISMO DE NUTRIENTES EN EL RUMEN EN DIETAS BASADAS EN RESIDUOS DE COSECHA.....	19
2.2.1 Medio ambiente ruminal para la digestión de alimentos altamente fibrosos.....	19
La dieta.....	19
El grado de acidez ruminal.....	20
a Crecimiento microbial.....	21
b Mecanismos microbiales en la fermentación de fibra.....	21
2.2.2 Metabolismo de los carbohidratos en el rumen.....	22
a Hidrólisis extracelular.....	22

13588

b	Degradación intracelular.....	23
	Formación de ácido acético.....	23
	Formación de ácido propiónico.....	23
	Formación de ácido butírico.....	24
	Sub productos de la fermentación de carbohidratos.....	26
c	Proporciones de AGV en dietas basadas en residuos de cosecha.....	27
2.2.3	Obtención de energía de los AGV y metabolismo intermedio en dietas basadas en residuos de cosecha.....	27
a	Formación de ATP de los AGV en dietas basadas en residuos de cosecha.....	27
	Formación de ATP en la fermentación ruminal.....	27
	Formación de ATP a nivel tisular.....	28
b	Metabolismo intermedio en dietas basadas en residuos de cosecha.....	28
	Síntesis de grasa.....	29
	Síntesis de glucosa.....	29
c	Obtención de AGV a nivel intestinal y metabolismo.....	29
2.2.4	Metabolismo del nitrógeno en el rumen y su relación con la energía.....	30
a	Síntesis de proteína microbiana y densidad poblacional microbiana.....	30
b	Concentración de amoníaco ruminal.....	31
	Disminución en la concentración de amoníaco ruminal.....	31
	Aumento en la concentración de amoníaco ruminal.....	32
	Regulación de la concentración de amoníaco ruminal.....	32
c	Fuentes nitrogenadas para la obtención de amoníaco.....	33
	Proteína de la dieta.....	35
	Nitrógeno no proteico de la dieta.....	35
	Urea de la dieta.....	36
d	Asociación urea y melaza.....	36
e	Intoxicación por urea.....	37
	Factores asociados al riesgo de intoxicación por urea.....	37
	Reseña de la fisiopatología en la intoxicación por urea.....	37
2.3	LA CAÑA DE AZÚCAR COMO FUENTE DE ALIMENTO ANIMAL.....	38
2.3.1	La caña de azúcar en un sistema integral de producción.....	38
a	Factores de la caña de azúcar asociados a la utilización de biomasa.....	38
b	Sistema integral de producción con caña de azúcar.....	39
c	Fraccionamiento de la caña de azúcar.....	41
	La corteza del tallo de la caña de azúcar.....	42
	La médula del tallo de la caña de azúcar.....	42
2.3.2	La caña de azúcar a nivel industrial.....	43
a	Sistemas industriales de caña de azúcar.....	43
b	Subproductos del procesamiento industrial de la caña de azúcar.....	44
	Miel final.....	44
	Bagazo de caña de azúcar.....	44
2.3.3	El cogollo de caña de azúcar.....	45
a	Recolección de cogollo de caña de azúcar.....	45
	Recolección como residuo de cosecha.....	45
	Recolección como reserva alimenticia.....	45
b	Potencial del cogollo de caña de azúcar como forraje.....	46
	Rendimiento de cogollo por hectarea.....	46
	Composición nutricional del cogollo.....	46
c	Formas de suministro del cogollo de caña de azúcar.....	46
	Mezcla de cogollo y médula de caña de azúcar.....	46
	Cogollo como ingrediente base de la dieta.....	47
d	Suplementación y tratamientos del cogollo.....	47
2.3.4	El momento de cosecha de la caña de azúcar y su relación con la digestibilidad.....	49
a	Determinación del índice de madurez de la caña para la cosecha.....	49
b	Factores relacionados a la concentración de sacarosa.....	49
c	Proceso de lignificación de la caña de azúcar.....	50
d	Evaluación nutricional del cogollo de caña de azúcar.....	50

III MATERIALES Y MÉTODOS.....	51
3.1 Esquema del estudio.....	51
3.2 Muestras de cogollo de caña de azúcar.....	51
3.3 Lugar y fecha de ejecución del experimento.....	52
3.4 Metodología experimental.....	52
3.4.1 Tamaño muestral.....	52
3.4.2 Composición de las muestras del experimento.....	53
3.4.3 Determinación de la digestibilidad <i>in vitro</i>	56
3.5 Análisis estadístico.....	57
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
V CONCLUSIONES.....	67
VI RECOMENDACIONES.....	68
VII BIBLIOGRAFÍA.....	69

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1: Esquema del número de muestras introducido a las pruebas de digestibilidad <i>in vitro</i> del experimento.....	53
Cuadro 2: Componentes y codificación de las variables del diseño central rotatable de segundo orden.....	54
Cuadro 3: Distribución de los valores de las variables codificadas y naturales de los tratamientos del diseño central rotatable de segundo orden.....	54
Cuadro 4: Composición de los tratamientos del diseño central rotatable de segundo orden.....	55
Cuadro 5: Coeficientes de digestibilidad <i>in vitro</i> (Y) obtenidos de los tratamientos del experimento.....	59
Cuadro 6: Estadística de regresión del diseño central rotatable de segundo orden.....	59
Cuadro 7: Análisis de varianza del diseño central rotatable de segundo orden.....	60
Cuadro 8: Coeficientes de las interacciones entre las variables consideradas en el diseño central rotatable de segundo orden.....	60
Cuadro 9: Punto estacionario del diseño central rotatable de segundo orden.....	61
Cuadro 10: Coeficientes de digestibilidad considerando X_3 (Cogollo de caña de azúcar) del punto estacionario como variable fija. $X_{3s} = -1,18$, equivalente a $\varepsilon_3 = 97,180$	63
Cuadro 11: Equipo, materiales y reactivos del procedimiento de digestibilidad <i>in vitro</i>	81

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Diagrama de un sistema integral de producción.....	6
Figura 2.	Esquema de la regulación del pH ruminal.....	21
Figura 3.	Conversión de los carbohidratos en ácido pirúvico.....	23
Figura 4.	Ruta del succinato en la formación de ácido propiónico.....	24
Figura 5.	Rutas de fermentación ruminal de los carbohidratos en la obtención de los ácidos volátiles.....	25
Figura 6.	Esquema general de la formación de AGV a partir de ácido pirúvico.....	26
Figura 7.	Ecuaciones de la obtención de ácidos grasos volátiles y ATP.....	28
Figura 8.	Rutas metabólicas del amoníaco.....	30
Figura 9.	Rutas del flujo de nitrógeno al rumen.....	33
Figura 10.	Fuentes nitrogenadas para la obtención ruminal de amoníaco.....	34
Figura 11.	La caña de azúcar como fuente alimenticia y energética en un sistema integral de producción.....	40
Figura 12.	Suplementación de la caña de azúcar en un sistema integral de producción.....	41
Figura 13.	Obtención de azúcar, residuos y subproductos en el procesamiento industrial de la caña de azúcar.....	43
Figura 14.	Cogollo de caña de azúcar variedad PCG12-745.....	52
Figura 15.	Tallos de caña de azúcar luego del recorte de cogollo.....	56
Figura 16.	Aplicación de mezcla de urea melaza sobre el cogollo de caña de azúcar cortado.....	56
Figura 17.	Muestras del experimento rotuladas durante el proceso de secado en la estufa.....	56
Figura 18.	Muestra del experimento seca y molida a 1 mm de diámetro.....	56
Figura 19.	Superficie de Respuesta considerando X ₃ (Cogollo de caña de azúcar) del punto estacionario como variable fija.....	63
Figura 20.	Reactivos y saliva artificial de McDougall.....	84
Figura 21.	Saliva artificial en Baño de María a 39° C.....	84
Figura 22.	Colección del contenido ruminal del ovino donador.....	84
Figura 23.	Filtrado del contenido ruminal.....	84
Figura 24.	Preparación del inóculo con una parte de fluido ruminal y cuatro de saliva artificial.....	84
Figura 25.	Matraces <i>Erlenmeyer</i> en el desecador. Nótese el rótulo y el contenido con muestra molida.....	84
Figura 26.	Matraz con muestra y accesorios para la instalación del procedimiento.....	85
Figura 27.	Primera fase del procedimiento. Incubación de las muestras en Baño de María durante 48 horas.....	85
Figura 28.	Homogenización manual de las muestras.....	85
Figura 29.	Muestras en refrigeración.....	85
Figura 30.	Segunda fase del procedimiento. Digestión de fibra durante una hora.....	85
Figura 31.	Filtrado de muestras con agua destilada caliente y acetona.....	85
Figura 32.	Crisoles en estufa durante el proceso de secado de 24 horas.....	85
Figura 33.	Pesado de crisol con muestra seca.....	85

ÍNDICE DE ANEXOS

Pág.

ANEXO 1.	RESEÑA DE LA EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE LOS FORRAJES	
	1 Variables químicas de evaluación.....	75
	2 Métodos de evaluación de la digestibilidad.....	75
	2.1 Digestibilidad <i>in vivo</i>	75
	2.2 Digestibilidad <i>in vitro</i>	76
	2.2.2 Generalidades de la metodología descrita por Tilley & Terry.....	77
ANEXO 2.	HOJA DE CARACTERÍSTICAS DE CAMPO DE LOS CULTIVOS DE CAÑA VARIEDAD PCG12-745 DEL PROYECTO CAÑA DE AZÚCAR DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL INIA VISTA FLORIDA.....	79
ANEXO 3.	METODOLOGÍA DE DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> APLICADA EN EL ESTUDIO	
	1 Preparación de la saliva artificial de Mc Dougall.....	81
	2 Preparación del fluido ruminal.....	82
	3 Primera fase del proceso de digestibilidad <i>in vitro</i>	82
	4 Segunda fase del proceso de digestibilidad <i>in vitro</i>	83
ANEXO 4.	RESULTADO DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO MEDIANTE EL PROGRAMA ESTADÍSTICO <i>SAS</i>	86

I. INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar, *Saccharum officinarum* L., es una gramínea C4 con alto potencial en la utilización eficiente de energía solar y captación de dióxido de carbono, proporciona altas cantidades de biomasa utilizable en la industria azucarera, en la alimentación animal y en la producción de energía (Preston & Leng, 1990; Preston, 1983). El Perú presentó, durante el año 2012, 81 149 hectáreas cosechadas de caña de azúcar destinadas a procesamiento industrial (MINAG, 2013). Por lo tanto, se produjo una biomasa constituida por 10 368 866 toneladas de tallos y, aproximadamente, 2 592 216 toneladas de cogollo fresco (MINAG, 2013; Preston, 1983).

En situaciones en que durante el proceso de cosecha de caña se realiza la quema de cogollo esta porción de la planta es desechada. Adicionalmente, en las zonas cercanas a los ingenios azucareros la quema de cogollo y de bagazo representan las principales fuentes de emisión de óxido de carbono (MINAM, 2009). Al respecto, dentro de la reglamentación para la protección ambiental del Perú, se presentan planes de acción para mejorar la calidad del ambiente de las ciudades de la costa norte. En estos planes, que incluyen la promoción y capacitación en buenas prácticas agrícolas, se plantea la reducción progresiva de la contaminación ambiental por quema de los cultivos de caña de azúcar y se propone la cosecha mecánica, con lo que se podrán recolectar cantidades significativas de cogollo fresco de caña de azúcar (MINAM, 2009).

La producción de caña de azúcar en el Perú se incrementa a una tasa anual de 1,8 por ciento desde los últimos diez años (MINAG, 2013). En consecuencia de la implementación y cumplimiento de los planes de mitigación de emisión de óxido de carbono relacionados a los cultivos de caña de azúcar, la cifra mencionada de producción y disponibilidad de biomasa relacionada a cogollo, igualmente, se incrementará.

El conocimiento de la digestibilidad del forraje permite categorizar su calidad nutritiva a fin de establecer programas alimenticios eficientes (Moore, 1981). El cogollo fresco de caña de azúcar representa una fuente de alimento animal que adecuadamente suplementado con fuentes de nitrógeno, minerales y energía puede integrar la dieta de mantenimiento de rumiantes (Preston & Leng, 1990; O'Donovan, 1975). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de diferentes niveles de suplementación de urea y melaza sobre la digestibilidad *in vitro* de la materia seca del cogollo fresco de caña de azúcar.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 RESIDUOS DE COSECHA Y SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES

2.1.1 Los residuos de cosecha y subproductos agroindustriales en el establecimiento de sistemas de alimentación animal tropical y subtropical

a. Reconocimiento de fuentes alimenticias regionales

El enfoque en las fuentes de recursos naturales y su utilización como alimento es de particular importancia, principalmente, en situaciones en que la disponibilidad de los mismos es inadecuada. A fin de incrementar la utilización efectiva de los recursos disponibles es esencial considerar los siguientes principios en el desarrollo de sistemas alimenticios (Devendra & Leng, 2011; Preston & Leng, 1990; Devendra, 1987):

- Identificación y descripción de los recursos alimenticios disponibles localmente.
- Conocimiento de la composición nutricional de los mismos, características físicas y digestibilidad.
- Comprensión de las limitaciones nutricionales asociadas con la utilización eficiente de sus nutrientes.
- Formulación de suplementos que optimicen el suministro de nutrientes.
- Inclusión de los recursos identificados en sistemas económicos y eficientes.
- Utilización de los mismos con una producción óptima o potencial predecible.

El tipo, cantidad y descripción física de recursos producidos durante el año, así como, la identificación de los mismos según la estación son fundamentales en el registro de los recursos alimenticios disponibles (Devendra, 1987). En este aspecto, los sistemas de información geográfica, vigilancia e imagen satelital representan herramientas de uso potencial (Devendra & Leng, 2011).

Así mismo, definir la utilización existente de estos recursos en la alimentación animal, el uso potencial de los mismos en sistemas alimenticios establecidos y el uso alternativo de éstos, permiten la identificación general de los mismos como fuente alimenticia. El potencial de estos recursos para procesamiento y; el costo en su

colección, manipulación, transporte y procesamiento completan la descripción del recurso disponible (Devendra, 1987).

A fin de clasificarlos, se identifican los siguientes grupos de recursos alimenticios para animales (Devendra & Leng, 2011; Devendra, 1987):

- Pasturas y forrajes convencionales (Gramíneas nativas y mejoradas, leguminosas y árboles multipropósito).
- Concentrados proteicos y energéticos (Cereales, tubérculos y aceites).
- Residuos de cosecha (Pancas, pajas, cogollos, y cáscaras).
- Subproductos agroindustriales (Harinas, tortas, mieles, granos de destilería).
- Alimentos no convencionales (Alimentos de origen animal, cultivos anuales y perennes, desechos animales, alimentos procesados de consumo humano).

b. Fuentes alimenticias en regiones tropicales y subtropicales

El establecimiento de sistemas de producción animal en países en vía de desarrollo debe considerar la adaptación de los sistemas pecuarios a los recursos disponibles. Los principales recursos alimenticios que se encuentran disponibles en regiones tropicales y subtropicales en cantidades adecuadas son las pasturas, los residuos de cosecha, los pastos de corte y cultivos de alto rendimiento en biomasa, así como, los subproductos agroindustriales (Preston & Leng, 1990). Los residuos de cosecha y subproductos agroindustriales constituyen la base de la dieta de rumiantes en estas regiones (Leng, 1990).

Los residuos de cosecha son recolectados durante el crecimiento y en la cosecha de los cultivos. Los subproductos agroindustriales son colectados o producidos durante la preparación o procesamiento de los cultivos a nivel industrial (Devendra, 1987).

Los residuos de cosecha son apropiados para su utilización por rumiantes como forraje, principalmente, a nivel de la misma finca en donde se obtienen (Devendra, 1987). Los subproductos agroindustriales se encuentran disponibles en grandes cantidades durante la época seca y puede presentarse competencia entre el abastecimiento como alimento animal y la industria (Engelhardt *et al*, 1985; O'Donovan, 1975).

c. Residuos de cosecha en sistemas integrales de producción

En el diseño de los sistemas de producción debe considerarse a aquellos que incorporen sistemas agrícolas que permitan la mayor eficiencia en la conversión de energía solar en biomasa, en donde la utilización de ésta se encuentre incrementada y, específicamente, el desecho de sus residuos sea mínimo debido a su reciclaje (Preston, 1983).

Las especies vegetales más apropiadas que constituyen estos sistemas multipropósito se caracterizan por ser cultivos perennes, bajos en proteína, capaces de ser cosechados o deshojados en intervalos frecuentes conservando su potencial para ser alimento animal, alimento humano y energía en forma de combustible. En este aspecto, los cultivos de caña de azúcar, plátano, yuca y camote representan fuentes vegetales importantes (Preston, 1983).

Los componentes rápidamente biodegradables de estas plantas son fuente de alimento animal, mientras que los componentes estructurales de pared celular relativamente indigestible son utilizados como combustibles y adecuadamente suplementados son fuente de alimento animal. En situaciones en que son utilizados como forraje de rumiantes la obtención de excretas representa una fuente de fertilizantes orgánicos que permiten el reciclaje de nutrientes. Estas interacciones se diagraman en la figura 1 (Preston, 1983).

2.1.2 Valor nutritivo de los residuos de cosecha y subproductos agroindustriales

La diferencia entre los residuos de cosecha y subproductos agroindustriales está relacionada a su calidad nutritiva; los residuos de cosecha son deficientes en nitrógeno, energía y micronutrientes; los que se encuentran, generalmente, más incrementados en los subproductos agroindustriales (Devendra, 1987). Los residuos de cosecha poseen bajo contenido de calcio, fósforo, vitaminas D y E, y son carentes de caroteno y de vitaminas B (Church, 1984).

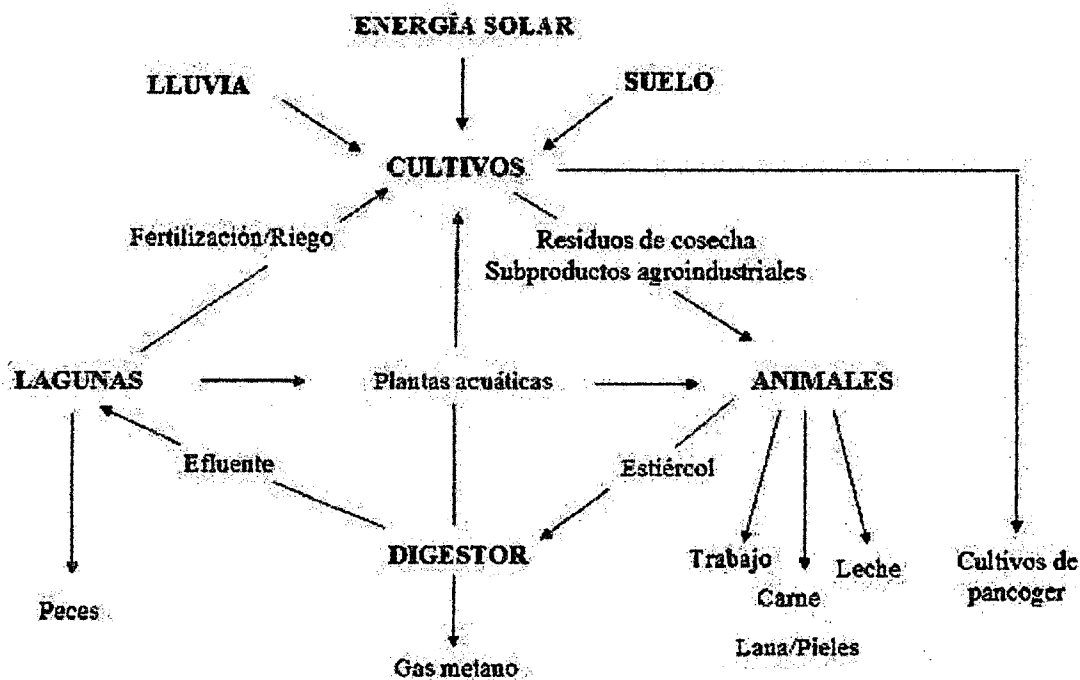


Fig. 1. Diagrama de un sistema integral de producción.

FUENTE: Preston & Leng (1990).

a. Clasificación de los residuos de cosecha en relación a su digestibilidad

Los residuos de cosecha, en general, poseen entre 3 y 4 por ciento de proteína, y entre 35 y 48 por ciento de fibra cruda; según su coeficiente de digestibilidad *in vitro* se les clasifica en las siguientes tres categorías (Devendra & Leng, 2011):

- Bajo contenido celular, alto contenido de fibra cruda y lignina; y bajos coeficientes de consumo voluntario y digestibilidad *in vitro*, entre 30 y 40 por ciento. Condiciones similares luego de tratamientos químicos.
- Bajo contenido celular; moderado coeficiente de digestibilidad *in vitro*, entre 40 y 50 por ciento. Condiciones medianamente mejoradas luego de tratamientos químicos.
- Alto contenido celular, bajo contenido de lignina; y altos coeficientes de consumo voluntario y digestibilidad *in vitro*, entre 50 y 60 por ciento.

b. Factores asociados al valor nutritivo de residuos de cosecha y subproductos agroindustriales

El valor nutritivo de los residuos de cosecha y subproductos agroindustriales está influenciado por factores intrínsecos del vegetal como la especie, la madurez de la planta, y enfermedades de las mismas; y por factores asociados al sistema de producción agrícola como la aplicación de fertilizantes, la calidad del suelo, el riego, la etapa de recolección, el intervalo entre la separación del grano y el uso de la paja, el periodo de almacenaje, y la proporción de hoja y tallo que se selecciona (Preston & Leng, 1990).

Estos factores se encuentran relacionados a la eficiencia en la utilización de los forrajes de baja calidad por los rumiantes debido a que determinan las características químicas y físicas del forraje, la relación entre el contenido de componentes celulares solubles y componentes de pared celular en el forraje que condiciona la población microbiana predominante en el rumen, la disponibilidad de nutrientes en la planta que garantiza un crecimiento microbiano eficiente que permite alcanzar una tasa de digestión alta, la proporción de alimento digerido en la fermentación ruminal y de nutrientes disponibles para digestión y absorción a nivel intestinal (Leng, 1990).

Así mismo, la eficiencia en el aprovechamiento de estos forrajes se encuentra influenciada por factores relacionados al animal como el estado fisiológico, la historia clínica y nutricional del animal que determinan la cantidad de nutrientes requeridos y el balance de los mismos; y a factores del entorno como la temperatura ambiental que determina los requerimientos de sustratos oxidativos para el mantenimiento de la temperatura corporal e influye en el balance de nutrientes disponible para funciones anabólicas (Leng, 1990).

2.1.3 Estructura química de los residuos de cosecha y su relación con la digestibilidad

Los forrajes de baja calidad son aquellos que poseen menos de 55 por ciento de digestibilidad, son deficientes en el contenido de proteína cruda y poseen muy bajo contenido de almidón y carbohidratos solubles (Leng, 1990). En este aspecto, todas las pajas son deficientes en nitrógeno y están conformadas, principalmente, por componentes de pared celular con poco contenido de células solubles que dependen de

la fermentación ruminal para su digestión (Mc Donald *et al*, 2006; Preston & Leng, 1990).

a. Complejo celulosa hemicelulosa

La máxima tasa de digestión ruminal de los componentes de pared celular por los rumiantes está relacionada a las características intrínsecas del complejo celulosa hemicelulosa (Engelhardt *et al*, 1985).

La digestión máxima de lignocelulosa es particular a cada especie vegetal, y debido a la lenta tasa en que es utilizada por los microorganismos ruminales, el aporte de energía disponible al animal a partir de la misma es bajo (Pigden & Bender, 1978). En los forrajes altamente fibrosos el contenido del complejo celulosa hemicelulosa representa entre el 60 y 75 por ciento del tejido vegetal y el contenido de lignina, entre el 5 y 25 por ciento (Pigden & Bender, 1978).

La lignocelulosa presenta tres fracciones con características nutricionales particulares: La lignina, que es no disponible para la microflora ruminal; la fracción de energía digestible, altamente disponible por los microorganismos ruminales; y la fracción de energía potencialmente digestible, altamente resistente a la fermentación ruminal y disponible a los microorganismos ruminales luego de tratamientos específicos (Pigden & Bender, 1978).

b. Factores asociados a la fermentación del complejo celulosa hemicelulosa

Entre los factores que limitan la disponibilidad de hemicelulosa se menciona el contenido de lignina, el tamaño de la partícula del material fibroso y los niveles de nitrógeno y minerales disponibles (Pigden & Bender, 1978). En este sentido, la lignina representa el principal limitante en la ingesta y digestión del forraje aún en situaciones en que los niveles de proteína, minerales y vitaminas son adecuados (Devendra, 1987).

Así mismo, entre los factores que afectan la digestibilidad de estos componentes de pared celular se menciona el estado de madurez del cultivo, la composición botánica, el contenido de materia seca, suplementos de la dieta, procesamiento y tratamientos químicos del forraje (Devendra, 1987). La capacidad de los rumiantes para utilizar adecuadamente estos forrajes de baja calidad se encuentra asociada al tamaño de la

cavidad ruminal y a la tasa de pasaje del material digerido. Al respecto, los rumiantes que pastorean y los consumidores de materiales rugosos son más eficientes en la utilización de dietas fibrosas de baja calidad en comparación con los rumiantes consumidores de granos (Engelhardt *et al*, 1985).

Es importante mencionar que los principales factores asociados a la digestibilidad y que limitan la productividad en los sistemas alimenticios basados en residuos de cosecha son (Preston & Leng, 1990):

- Tasa de degradación lenta y bajo potencial de digestión.
- La velocidad con la que las partículas de alimento son degradadas a un tamaño adecuado para fluir del rumen.
- El patrón de fermentación caracterizado por una baja concentración de ácido propiónico.
- Contenido considerablemente bajo de nitrógeno fermentable, así como, de proteína sobrepasante.

En el Anexo 1 se presenta una reseña de la evaluación de la digestibilidad de los forrajes.

2. 1.4 Suplementación de los residuos de cosecha

a. Consideraciones generales en la suplementación

En la utilización eficiente de forrajes de baja calidad debe optimizarse la disponibilidad de nutrientes obtenidos de la digestión fermentativa mediante las siguientes condiciones (Leng, 1990):

- Disponibilidad apropiada de nutrientes microbiales en el rumen. Esta condición permite el crecimiento adecuado de los microorganismos ruminales, lo que contribuye a una actividad fermentativa eficiente y la consiguiente utilización de la mayor cantidad de carbohidratos del forraje.
- Conservación de células microbianas sintetizadas en el rumen. Estas células que escapan a la fermentación y lisis ruminal son disponibles para su digestión y absorción como aminoácidos a nivel intestinal.

- Suplementación con nutrientes que escapan o sobrepasan la fermentación ruminal. La suplementación adecuada permite aumentar y balancear los nutrientes absorbidos para el mantenimiento de la homeostasis, temperatura corporal, y las funciones fisiológicas y productivas.

La utilización de suplementos se justifica en situaciones de escasez de alimentos, en forma periódica o por tiempo prolongado, así como, a un bajo nivel nutricional debido a la combinación de estados de desnutrición, mal nutrición, y en animales de bajo potencial genético y animales de alta producción (Devendra, 1987).

Así mismo, la composición de la ración y el nivel de alimentación son factores que influyen en la digestibilidad de los forrajes. La complementación de forrajes con determinados piensos puede reducir la digestibilidad del forraje, alterar el ritmo de consumo y reducir el consumo voluntario (Jackson, 1978; Johnson, 1972).

Es posible conseguir tasas de media a alta producción en rumiantes alimentados con dietas basadas en forrajes de baja calidad adecuadamente suplementadas con nutrientes específicos. La estrategia de suplementación debe estar relacionada al clima, sistema de producción y objetivos de producción, en donde la energía metabolizable de un forraje puede utilizarse con alta eficiencia según la suplementación establecida (Leng, 1990).

En el diseño de suplementos en dietas para rumiantes es necesario considerar la variabilidad en la demanda de nutrientes asociada a la temperatura ambiental. El medio ambiente es un factor relacionado con la distribución de nutrientes para las funciones productivas y con la eficiencia de la utilización del alimento. En este sentido, en rumiantes alimentados con forrajes de baja calidad, los suplementos que incrementan la relación proteína/energía de los nutrientes absorbidos reducen la producción de calor metabólico, debido a que estos nutrientes son utilizados, junto con el acetato producido en la digestión del forraje, en la síntesis tisular; lo que favorece el crecimiento de los microorganismos celulolíticos y el consecuente mantenimiento del consumo de alimento (Leng, 1990; Preston, 1983). En situaciones contrarias, el acetato producido debe disiparse en forma de calor, limitando el consumo voluntario del alimento. Al respecto, el incremento de calor debido a la adición de material acetogénico está relacionado al patrón de fermentación ruminal y al balance entre la proteína disponible

para digestión y absorción a nivel intestinal y los ácidos grasos volátiles producidos (Leng, 1990).

b. Suplementación con minerales

Los microorganismos ruminales poseen requerimientos específicos de macro y micro minerales. Estos nutrientes son utilizados en la composición estructural de la célula microbial, composición de enzimas y cofactores. La deficiencia de minerales reduce el crecimiento eficiente de los microorganismos ruminales; en situaciones en que la deficiencia persiste, disminuye la digestibilidad de los forrajes debido a una disminución de la cantidad de microorganismos ruminales, llevando a una disminución del consumo de alimento (Leng, 1990).

Entre los minerales para suplementación de dietas basadas en forrajes de baja calidad en regiones tropicales se menciona, principalmente; azufre, fósforo, magnesio y amonio (Leng, 1990). En forma particular, azufre y fósforo representan factores limitantes en dietas suplementadas con nitrógeno no proteico (Pigden & Bender, 1978).

El contenido de minerales en los residuos de cosecha es, generalmente, bajo; sin embargo, dependiendo de la calidad de la paja es posible proporcionar los requerimientos de animales de trabajo y los de mantenimiento. La suplementación está indicada para alcanzar tasas de producción debido a que los requerimientos de los mismos se incrementan en un cien por ciento, aproximadamente (Preston & Leng, 1990).

Es importante resaltar que los beneficios de la suplementación con minerales se evidencian al suplementar los niveles de los principales nutrientes en la dieta, como nitrógeno o proteína glucogénica (Preston & Leng, 1990).

c. Suplementación con nitrógeno no proteico

En la optimización de la digestión fermentativa del forraje rugoso, el nivel de amonio que aporta el nitrógeno necesario para el crecimiento microbiano es prioritario. El nivel de amonio requerido como suplemento, el cual depende del pH del contenido ruminal, es alto en dietas basadas en forrajes de baja calidad y bajo en dietas basadas en granos (Leng, 1990).

La suplementación con amonio y minerales provee los nutrientes y condiciones ruminales para una fermentación ruminal bastante eficiente. En este sentido, la adición de urea permite obtener tasas de producción altas e incrementos en condición corporal en relación al potencial genético del animal (Preston, 1983).

La adición de pequeñas cantidades de urea a estos forrajes permite acelerar la degradación de la celulosa, incrementar la ingesta de materia seca y la digestibilidad de la fibra cruda (Pigden & Bender, 1978). Entre las ventajas de la utilización de urea se menciona el contacto continuo con el sustrato, condición que también se consigue mediante la utilización de bloques de urea (Preston, 1983). Los efectos positivos de la adición de urea se observan en situaciones en que se suministra en asociación a una fuente energética, y en que reemplace hasta la tercera parte del total de nitrógeno de la dieta (O'Donovan, 1975).

La urea se puede proporcionar distribuyéndola directamente sobre la paja, mediante una mezcla líquida de urea y miel final o, mediante un bloque sólido compuesto por urea, miel final y un agente solidificante. Las dos últimas son bastante aceptadas por el rumiante debido a que la miel aporta palatabilidad a la preparación. De esta manera, el animal accede al forraje con frecuencia, lo que permite que los ingredientes estén disponibles para los microorganismos ruminales en forma continua (Preston & Leng, 1990; Devendra, 1987).

La suplementación con nitrógeno, minerales, energía de rápida disponibilidad y el tamaño de la partícula del material fibroso son variables importantes en el suministro de forrajes de baja calidad no expuestos a tratamientos físicos o químicos. En situaciones en que la respuesta de estos forrajes es poco eficiente frente a la suplementación con nitrógeno, se considera la lignina como factor limitante (Pigden & Bender, 1978).

d. Suplementación con forraje de alta calidad

La tasa de digestibilidad de los forrajes altamente fibrosos está relacionada con la tasa y extensión de la colonización de microorganismos sobre el material fibroso, así como, a la biomasa de los microorganismos adheridos. La colonización de bacterias es un proceso que ocurre por continuidad entre las partículas de fibra en el rumen. Al respecto, la introducción de forraje fresco altamente digestible en dietas fibrosas de baja calidad permite la diseminación de microorganismos de las fracciones de fibra altamente colonizadas a las menos digestibles, lo que favorece la digestibilidad de estas últimas (Leng, 1990). Estos forrajes verdes de alta calidad aportan un efecto benéfico al ecosistema ruminal y, en consecuencia, a su función de fermentación (Romney *et al*, 2001; Preston, 1983).

La adición de una fuente de nitrógeno fermentable, de forraje verde y de una fuente que permita la disponibilidad de aminoácidos a nivel intestinal en una dieta basada en residuos de cosecha permite optimizar la nutrición de mantenimiento del rumiante y la productividad. Para la mayoría de los recursos alimenticios de los trópicos, la adición de una fuente de proteína sobrepasante permite complementar la proteína microbiana y, por lo tanto, incrementar la eficiencia de utilización de los nutrientes absorbidos y el consumo voluntario. Las leguminosas, como complemento de una dieta basada en forrajes de baja calidad, proporcionan follaje de alto contenido de nutrientes esenciales como nitrógeno, micronutrientes, celulosa/hemicelulosa fácilmente fermentables, y proteína sobrepasante (Preston & Leng, 1990).

e. Suplementación con almidón

La eficiencia en el crecimiento de la población microbiana ruminal en animales alimentados con dietas basadas en forrajes está influenciada por el nivel de almidón en la ración y de carbohidratos solubles del material fibroso. En este aspecto, la introducción de granos favorece el crecimiento de bacterias amilolíticas, lo que representa un efecto negativo para la fermentación de la celulosa. Por lo tanto, la digestibilidad del forraje disminuye y, en consecuencia, el consumo de alimento (Mc Donald *et al*, 2006; Leng, 1990).

En este sentido, la suplementación con aminoácidos ejerce un efecto similar, debido a que los microorganismos amilolíticos aprovechan en forma rápida estos

nutrientes incorporándolos como proteína a su estructura celular, en consecuencia, se favorece su desarrollo y proliferación (Mc Donald *et al*, 2006; Leng, 1990).

2.1.5 Tratamientos de los residuos de cosecha

El tratamiento de la paja tiene como finalidad incrementar su digestibilidad y, en consecuencia, la cantidad consumida por los animales cuando se les suministra como forraje; de esta manera se incrementa la ingestión de energía digestible a partir de la misma. El incremento de la digestibilidad del forraje está relacionado a la eficacia del tratamiento, al nivel de alimentación y, al tipo y cantidad de suplementos de la ración. Los tratamientos se clasifican en físicos, químicos y biológicos (Jackson, 1978).

a. Tratamientos físicos

Los principales métodos físicos son la molienda y la exposición al vapor y presión (Jackson, 1978).

Los procesos de molienda y presión están relacionados con la disminución de la digestibilidad de los forrajes altamente fibrosos debido a que producen un incremento de la tasa de pasaje a través del tracto digestivo (Bondi, 1989).

Tamaño de la partícula del forraje altamente fibroso

La disminución de tamaño de las partículas largas de forraje ocurre mediante el proceso de rumia, sin embargo, la digestión microbiana de forrajes de baja calidad resulta un mecanismo ineficiente. Las partículas largas de forraje se movilizan del retículo-rumen al alcanzar un mínimo tamaño, en consecuencia, respecto a forrajes altamente fibrosos, se produce retención del contenido ruminal limitándose el consumo de alimento. Al respecto, se mencionan dos factores como principales limitantes de la ingesta de dietas con alto contenido de fibra, la tasa de degradación del material fibroso a partículas de mínimo tamaño y, la tasa de traslado selectivo de las partículas de mínimo tamaño resultantes de la cavidad ruminal (Engelhardt *et al*, 1985).

El largo de la partícula del material fibroso está relacionado con la ingesta del forraje. En situaciones en que el forraje posee menos de 65 por ciento de digestibilidad, la longitud de la partícula es un factor significativo para la digestión del mismo y a su vez modificable mediante la trituración mecánica adecuada (Pigden & Bender, 1978).

Molienda del forraje

El proceso de molienda permite incrementar la ingesta de energía digestible, sin embargo, debido a la deficiencia de proteína cruda de los forrajes de baja calidad, el nitrógeno representa un factor limitante en los materiales fibrosos molidos (Jackson, 1978; Pigden & Bender, 1978).

Mediante el proceso de molienda se consigue (Pigden & Bender, 1978):

- Reducir el tiempo y energía requeridos en el pasaje de la partícula por el rumen.
- Incrementar el área de superficie y, en consecuencia, la tasa de fermentación ruminal.
- Incrementar la densidad del alimento y, por lo tanto, la capacidad efectiva del animal.

En estudios en laboratorio, el proceso de molienda permite reducir el error de muestreo, aumentar la solubilidad del material a evaluarse e incrementar la reactividad química. Sin embargo, es necesario el secado apropiado de la muestra, así mismo, la muestra puede contaminarse con el material anterior del molino e igualmente puede ocurrir descomposición de la muestra asociada al calor, y a la pérdida o aumento de humedad. El molino Wiley permite moler la muestra en estudio a 2, 1 ó 0,5 mm de diámetro, así mismo, permite reducir la pérdida de material evaluado debido a que la muestra se mantiene a una temperatura apropiada durante el proceso y se mantiene protegida del aire que introduciría polvo e incrementaría humedad a la muestra (Bateman, 1970).

Exposición al vapor y presión

Entre los tratamientos físicos, la exposición periódica de la lignocelulosa a vapor y a condiciones de presión incrementa la digestibilidad *in vitro* de los forrajes de baja calidad (Pigden & Bender, 1978).

La adición de nitrógeno en forma de amonio a estos materiales luego de estos procesos a fin de neutralizar los ácidos orgánicos liberados por la hidrólisis producida incrementa la digestibilidad de los forrajes resistentes a los procesos de vapor y presión (Pigden & Bender, 1978). Mediante este proceso de hidrólisis ácida, el vapor a altas

temperaturas libera el ácido acético del tejido fibroso, el cual produce hidrólisis de los enlaces entre los carbohidratos y la lignina. La aplicación de este método de tratamiento es factible en lugares que dispongan de esta fuente de energía a bajo costo, como los ingenios azucareros (Preston & Leng, 1990).

b. Tratamientos químicos

Los tratamientos químicos en el procesamiento de la lignocelulosa comprende, principalmente, la utilización de álcalis para incrementar la digestibilidad de los forrajes. Algunos de estos tratamientos comprenden la separación de sus componentes estructurales provocando pérdida de hemicelulosa (Pigden & Bender, 1978).

Tratamientos con hidróxidos

Entre los métodos de tratamiento con álcalis por vía húmeda, que incluyen hidróxido de sodio, se menciona la metodología de Beckman y la metodología de Torgrimsby o Beckman modificado. Los tratamientos con álcalis por vía seca incluyen el procedimiento industrial con hidróxido de sodio y, los tratamientos en la explotación agrícola (Jackson, 1978).

Entre los tratamientos en el centro de producción se menciona el tratamiento diario, utilizando hidróxido de sodio, hidróxido de calcio o amonio; y el tratamiento a granel como el tratamiento con hidróxido de sodio seguido del empilado, el tratamiento con hidróxidos de sodio y de calcio seguidos del ensilado y el tratamiento de pilas con amonio cubiertas con una lámina de plástico (Jackson, 1978). Los tratamientos que incluyen remojo del material fibroso y lavado resultan, por lo general, ineficientes (Pigden & Bender, 1978).

El tratamiento de los forrajes rugosos con hidróxido de sodio, al suplementar el forraje con nitrógeno, incrementa la digestibilidad, y por lo tanto, el nivel de consumo. Este efecto está relacionado a la saponificación de los ésteres de ácido urónico asociados a las cadenas de zilano (Pigden & Bender, 1978). Sin embargo, es un proceso poco económico, de aplicación difícil y, presenta riesgos para las personas y animales involucrados en el proceso al ser un álcali bastante corrosivo (Walli, 2010a; Preston & Leng, 1990; Church, 1984).

Tratamientos con nitrógeno no proteico

Entre los métodos que utilizan amonio para aumentar la digestibilidad de los forrajes se mencionan los tratamientos que utilizan amoniaco gaseoso, en solución o generado a partir de la urea (Preston & Leng, 1990).

El método conveniente en la generación de amoniaco a partir de la urea es mediante el ensilaje húmedo sometiendo el material fibroso a temperaturas altas. En algunas ocasiones se adiciona enzima ureasa a los residuos de cosecha y subproductos sumamente fibrosos. (Preston & Leng, 1990). Los ensilajes tratados con amoniaco presentan menos pérdida de energía debido a una menor pérdida de CO₂, contienen mayor concentración de ácido láctico debido al efecto tampón del amoniaco, así mismo, la concentración de nitrógeno insoluble es mayor debido a una menor proteólisis, y en la exposición al aire muestran menor sobrecalentamiento y descomposición debido a la actividad antifúngica (Church, 1984).

El tratamiento de las pajas con urea es bastante económico, aumenta la palatabilidad de la misma, incrementa la digestibilidad de la materia seca, el contenido de proteína cruda y de nutrientes digestibles totales. Sin embargo, el procedimiento es laborioso y demanda de abundante disponibilidad de agua limpia y materiales para efectuarlo adecuadamente, de lo contrario, se producen pérdidas de la paja disponible (Walli, 2010a).

La utilización de amoniaco gaseoso es más efectiva, sin embargo, su disponibilidad se limita a países que dispongan de la infraestructura requerida para la distribución de amoniaco en tanques o cilindros, como los países productores de petróleo (Preston & Leng, 1990).

Estos procesos liberan sustancias tóxicas que se mantienen en el forraje e incluso se transmiten a través de la leche producida, por lo tanto, en la aplicación de estos tratamientos, se requiere de un control estricto de la temperatura de los procesos, de las proporciones de amonio y los componentes del ensilado y de la dieta, debido a que el riesgo de intoxicación de animales que consumen forraje amonificado y del personal que manipula el alimento es alto (Preston & Leng, 1990).

Observación microscópica de forrajes tratados con álcalis.

La observación mediante microscopio electrónico de barrido de los forrajes tratados con álcalis evidencia la separación de los polímeros de lignina de las células de la pared celular. Estas observaciones se confirman en la observación mediante microscopio electrónico de transmisión, en donde, además se distingue una gran población de bacterias adheridas sobre el tejido vegetal y concentradas sobre el xilema, en comparación con los tejidos sin tratamientos. Así mismo, es notoria la degradación de la laminilla mediana del esclerénquima por las bacterias. En el tratamiento con amonio, es necesaria una incubación ruminal de 72 horas para evidenciar la desorganización celular del esclerénquima de la paja y el inicio de su degradación (Grenet, 1997).

c. Tratamientos biológicos

Los tratamientos biológicos utilizan determinados microorganismos capaces de degradar lignina como parte de su crecimiento (Walli, 2010b).

Los hongos lignolíticos han sido evaluados en la degradación de la lignina de los residuos de cosecha, a fin de incrementar su valor nutritivo al disminuir el contenido de lignina e incrementar el contenido proteico por la presencia de los mismos en el forraje. Estos hongos utilizan como sustrato energético la celulosa y hemicelulosa para su crecimiento. La degradación de la lignina es un proceso oxidativo y dependiente de peróxido de hidrógeno, en donde, la enzima lignina peroxidasa descompone el polímero de lignina en productos que se convierten finalmente a dióxido de carbono (Walli, 2010b).

Los residuos de cosechas sometidos a estos tratamientos presentan incrementos en el contenido de proteína cruda, sin embargo, en comparación con tratamientos con urea, la digestibilidad disminuye y los animales evaluados disminuyen la tasa de consumo voluntario debido a la baja palatabilidad del forraje tratado con hongos (Walli, 2010b).

2.2. METABOLISMO DE NUTRIENTES EN EL RUMEN EN DIETAS BASADAS EN RESIDUOS DE COSECHA

2.2.1. Establecimiento del medio ambiente ruminal para la digestión de alimentos altamente fibrosos

El principal factor que controla la degradación del alimento en el rumen es la existencia de microorganismos (Mc Donald *et al*, 2006). En este sentido, el tipo y cantidad de alimento consumido, la mezcla periódica del contenido ruminal a través de las contracciones ruminales, la salivación, rumia y traslado de material hacia el aparato digestivo posterior son factores que controlan el ambiente ruminal (Preston & Leng, 1990). También se menciona el gran tamaño del rumen que permite la acumulación de alimento y proporciona el tiempo necesario para la degradación de la celulosa (Mc Donald *et al*, 2006; Engelhardt *et al*, 1985). Los movimientos del retículo rumen y la rumia intervienen en la trituración del alimento para su adecuada exposición a la acción microbiana (Mc Donald *et al*, 2006).

Los principales factores asociados al establecimiento del medio ambiente ruminal son la dieta y el grado de acidez ruminal (Mc Donald *et al*, 2006; Kaufmann & Saelzer, 1991).

La dieta

La dieta condiciona el número y cantidad de microorganismos presentes en el contenido ruminal (Mc Donald *et al*, 2006; Kaufmann & Saelzer, 1991; Preston & Leng, 1990; Maynard *et al*, 1979).

En dietas con alto contenido de fibra las bacterias anaeróbicas y los hongos ficomicetos son los principales organismos que participan en la fermentación de los carbohidratos de la pared celular; celulosa y hemicelulosa, principalmente (Mc Donald *et al*, 2006; Preston & Leng, 1990). Sin embargo, en estas dietas ricas en forrajes, las concentraciones bacterianas son relativamente bajas (Kaufmann & Saelzer, 1991).

En consecuencia, en sistemas de alimentación basados en fuentes alimenticias altamente fibrosas; como residuos de cosecha, pastos maduros y subproductos

agroindustriales; es altamente recomendable la suplementación de la ración a fin de optimizar la productividad animal, en razón a que favorece el establecimiento de un ecosistema microbial eficiente en el rumen y el equilibrio óptimo de los nutrientes obtenidos de los procesos digestivos (Preston & Leng, 1990).

El grado de acidez ruminal

Las condiciones predominantes de fermentación, especialmente relacionadas al pH, influyen en el metabolismo de las bacterias. En este sentido, las dietas con alto contenido de fibra precisan de flora celulolítica, la cual requiere de un medio ambiente ruminal establecido por un pH entre 6 y 7 (Kaufmann & Saelzer, 1991).

El grado de acidez en el rumen presenta variaciones de acuerdo al tipo de alimento consumido y al tiempo transcurrido desde su ingestión. Entre los factores que influyen en la regulación del pH ruminal se menciona la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), la cantidad de saliva secretada y la velocidad de absorción de los AGV formados (Kaufmann & Saelzer, 1991).

Al disminuir el pH ruminal el grado de disociación de los AGV disminuye provocando el aumento en la velocidad de absorción de los mismos; en consecuencia, la disminución en la concentración de AGV en el rumen favorece en la estabilización del pH ruminal. El pH ruminal desciende conforme aumenta la producción de AGV, mientras que la saliva secretada durante la rumia y la masticación participan en la regulación del pH ruminal debido al aporte de sales con capacidad buffer como bicarbonato de sodio y, fosfatos de sodio y potasio (Kaufmann & Saelzer, 1991).

En este sentido, en dietas con alto contenido de material fibroso el proceso de rumia se prolonga y, en consecuencia, la producción de saliva con el respectivo incremento de pH ruminal, situación que favorece la digestión de la celulosa, como se describe en el diagrama de la figura 2 (Kaufmann & Saelzer, 1991).

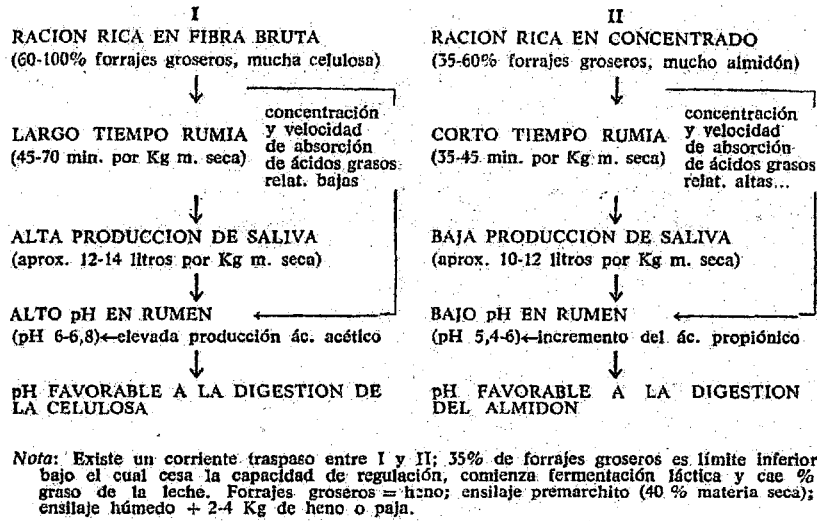


Fig. 2. Esquema de la regulación del pH ruminal.

FUENTE: Kaufmann & Saelzer (1991).

a. Crecimiento microbial

Los principales precursores necesarios para el crecimiento microbial son amoníaco, azufre, péptidos y aminoácidos (Preston & Leng, 1990; Jarrige, 1981). En este sentido, las bacterias celulolíticas requieren esencialmente de amoníaco para la síntesis de sus proteínas (Jarrige, 1981).

El ATP obtenido de la conversión del alimento en AGV es la principal fuente de energía para el crecimiento de los microorganismos ruminales, en donde, la síntesis de aminoácidos y proteínas microbiales, a partir de amoníaco, son las principales reacciones que lo requieren (Preston & Leng, 1990). Así mismo, la producción de células microbianas es directamente proporcional a la cantidad de ATP obtenida por la fermentación del carbohidrato (Jarrige, 1981).

b. Mecanismos microbiales en la fermentación de fibra

Los microorganismos celulolíticos poseen dos mecanismos que participan en la degradación tisular del forraje; la adhesión a la pared celular a fin de digerir la fibra y la secreción de enzimas extracelulares mediante la cual producen la degradación del complejo celulosa hemicelulosa a oligosacáridos, glucosa y ATP (Preston & Leng, 1990).

Todos los componentes de la célula vegetal son afectados por los microorganismos, excepto las porciones asociadas a la lignina (Mc Donald *et al*, 2006). Los componentes digeribles del alimento ingerido se degradan a nivel ruminal a AGV y compuestos intermediarios para el crecimiento microbial. Una parte del alimento potencialmente fermentable es digerido en el aparato digestivo posterior evitando la fermentación ruminal (Preston & Leng, 1990).

2.2.2 Metabolismo de los carbohidratos en el rumen

La degradación de los carbohidratos hasta AGV se divide en dos fases (Mc Donald *et al*, 2006; Bondi, 1989):

La hidrólisis extracelular de los carbohidratos complejos; celulosa, hemicelulosa y pectina; a oligosacáridos de cadena corta, principalmente, disacáridos como celubiosa, maltosa y xilobiosa; y la posterior degradación a monosacáridos.

La degradación intracelular de los monosacáridos; principalmente, hasta AGV mediante enzimas intracelulares.

a. Hidrólisis extracelular

Durante la hidrólisis extracelular la celulasa microbiana descompone la celulosa en celobiosa, la que es convertida en glucosa por la celobiosa microbiana o en glucosa 1-fosfato por la α -fosforilasa.

Mientras, la hemicelulosa se descompone a xilobiosa y posteriormente a xilosa por la xilobiasa microbiana, con liberación de ácidos urónicos.

La pectina es hidrolizada, con liberación de ácidos urónicos, por la pectinesterasa a metanol y ácido péctico; el cual es degradado por la poligalacturonidasa a ácido galacturónico, éste último es degradado a xilosa.

Así mismo, la sacarosa es hidrolizada hasta su conversión en fructosa, la que también es obtenida por la hidrólisis de la fructosana.

Estos monosacáridos obtenidos de la hidrólisis extracelular; glucosa, fructosa, xilosa; son degradados intracelularmente hasta la obtención de ácido pirúvico, como se aprecia en forma resumida en la figura 3 (Mc Donald *et al*, 2006; Bondi, 1989).

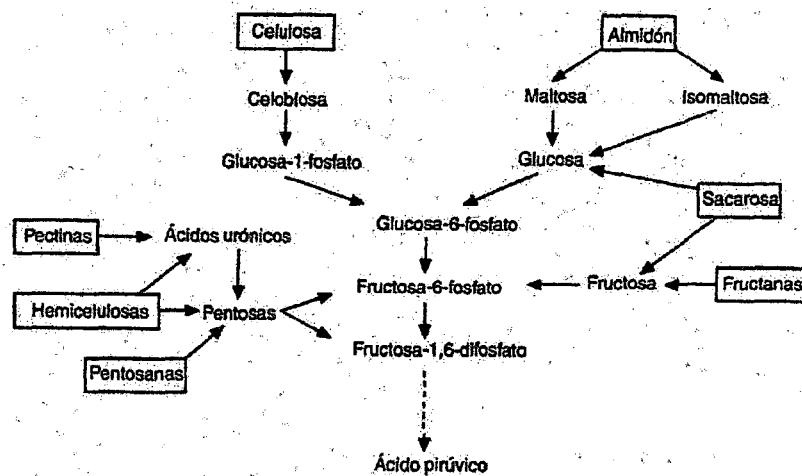


Fig. 3. Conversión de los carbohidratos en ácido pirúvico.

FUENTE: McDonald *et al* (2006).

b. Degradación intracelular

Formación de ácido acético

La oxidación del ácido pirúvico hasta ácido acético se realiza vía acetil-CoA o acetil fosfato, como fases intermedias. En estas reacciones se liberan pares de electrones que son transferidos, según el tipo de microorganismos, a protones que se liberan en forma de hidrógeno molecular o al dióxido de carbono con producción de formiato (Bondi, 1989).

Formación de ácido propiónico

La formación de ácido propiónico en el rumen implica la fijación de dióxido de carbono al ácido fosfoenolpirúvico formando ácido oxalacético con posterior formación de ácido málico y ácido fumárico, siguiendo hasta la formación de ácido succínico, del cual finalmente mediante descarboxilación oxidativa se obtiene ácido propiónico (Bondi, 1989). La figura 4 muestra la secuencia química de la ruta del succinato.

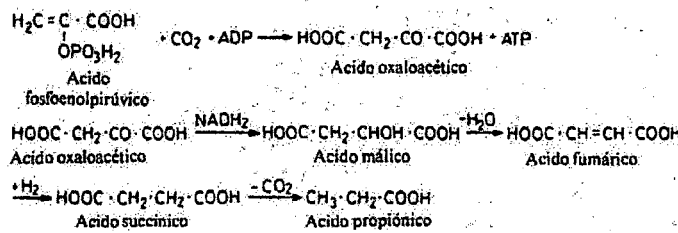


Fig. 4. Ruta del succinato en la formación de ácido propiónico

FUENTE: Bondi (1989).

Esta ruta descrita es la predominante en raciones formadas principalmente por alimentos altamente fibrosos. La ruta del acrilato o reductora predomina en raciones ricas en concentrados, implica la reducción directa de ácido propiónico vía los derivados de coenzima A del ácido láctico y ácido acrílico (Mc Donald *et al*, 2006; Bondi, 1989).

Formación de ácido butírico

Los alimentos con alto contenido de azúcar contribuyen en la obtención de monosacáridos, aumentando la concentración relativa de ácido butírico con formación de ácido láctico (Kaufmann & Saelzer, 1991). El ácido butírico se obtiene a partir de la reducción del ácido acético seguida de la oxidación del grupo NADH liberado, el NAD obtenido permite la fermentación adicional de glucosa. También se obtiene ácido butírico a partir de ácido acético mediante la vía del malonil-CoA (Bondi, 1989).

Las rutas metabólicas de formación de los AGV a partir de la fermentación de los polisacáridos a ácido pirúvico y el esquema que las resume, a partir de ácido pirúvico, se muestran a continuación en las Fig. 5 y 6, respectivamente.

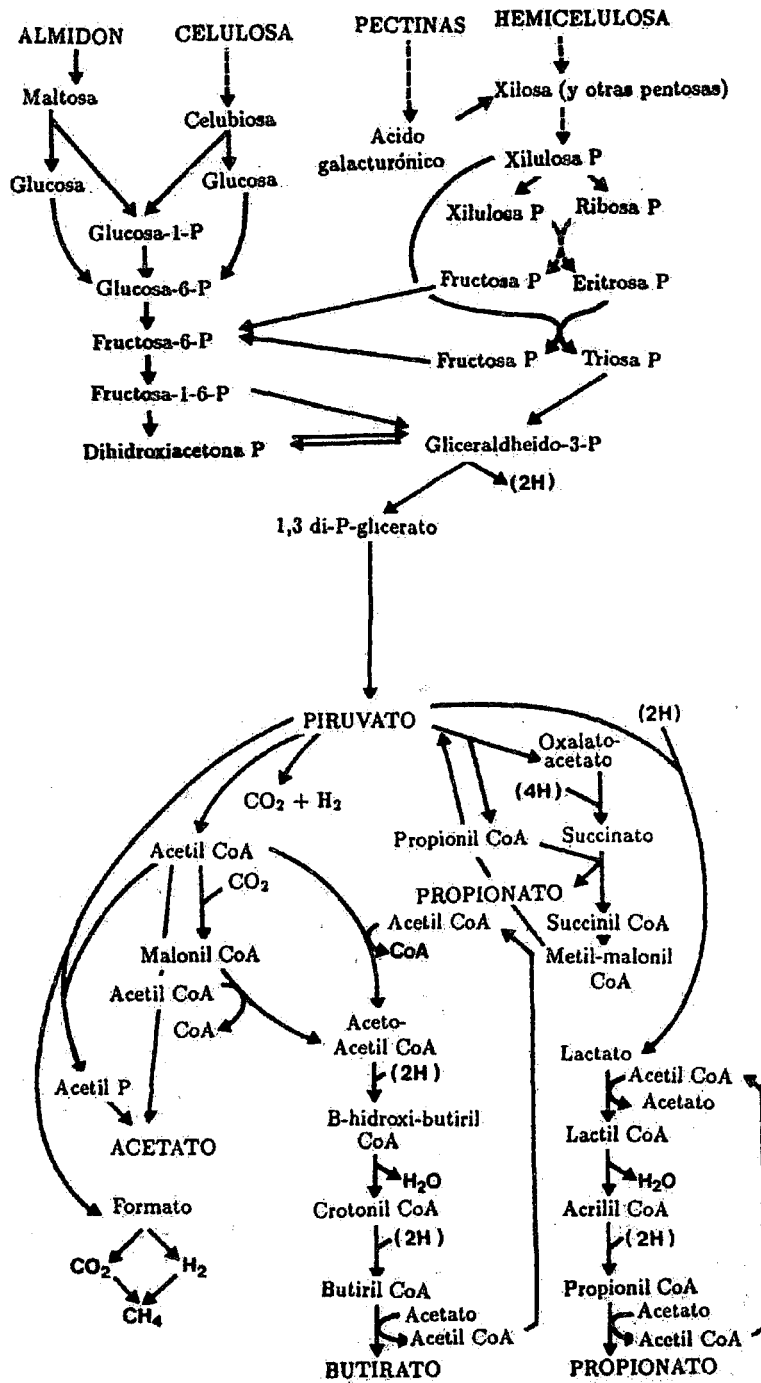


Fig. 5. Rutas de fermentación ruminal de los carbohidratos en la obtención de los ácidos grasos volátiles.
 FUENTE: Preston & Leng (1990).

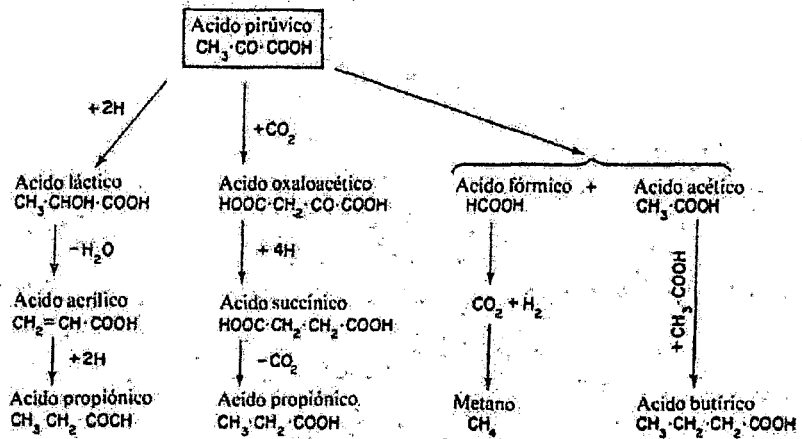


Fig. 6. Esquema general de la formación de AGV a partir de ácido pirúvico.

FUENTE: Bondi (1989).

Sub productos de la fermentación de carbohidratos

En la fermentación ruminal se produce dióxido de carbono e hidrógeno, como subproductos de las reacciones químicas descritas. En la formación de ácido acético a partir de ácido pirúvico se forma ácido fórmico y dióxido de carbono. El hidrógeno se obtiene durante las reacciones de formación del ácido pirúvico y de la formación de ácido acético a partir de éste. Igualmente, se forman hidrógeno y dióxido de carbono a partir del ácido fórmico mediante la fórmico deshidrogenasa (Bondi, 1989).

El metano es un sub producto predominante en el metabolismo de dietas basadas en residuos de cosecha y forrajes altamente fibrosos (Devendra & Leng, 2011). El metano se produce por las bacterias metanogénicas mediante reacciones de reducción de las moléculas de óxido de carbono producidas, en las cuales el hidrógeno producido durante los procesos fermentativos es el agente reductor. En estos procesos también intervienen el ácido fólico y la vitamina B₁₂. Las bacterias metanogénicas utilizan el ácido fórmico, el ácido acético o el metanol en la formación de metano (Bondi, 1989).

El metano, dióxido de carbono, hidrógeno son eliminados por medio del proceso de eructación. En situaciones en que existe un medio ambiente ruminal caracterizado por un pH alto la mayor parte del dióxido de carbono producido se absorbe y excreta a través de los pulmones mediante la expiración (Preston & Leng, 1990).

La formación de los ácidos acético y butírico está relacionada a una mayor formación de metano, y en consecuencia, a una pérdida adicional de la energía inicial del alimento debido al gasto energético que implica su eliminación (Mc Donald *et al*, 2006; Kaufmann & Saelzer, 1991; Bondi, 1989).

c. Proporciones de AGV en dietas basadas en residuos de cosecha

Las tasas de fermentación de los carbohidratos en el rumen son diferentes. Los productos finales de ésta son los mismos presentándose variación en sus proporciones de acuerdo a la composición de la ración y el tiempo transcurrido desde la última ingesta de alimento (Mc Donald *et al*, 2006; Preston & Leng, 1990).

En dietas basadas en residuos de cosecha, la baja concentración de ácido propiónico caracteriza el patrón de fermentación (Kaufmann & Saelzer, 1991; Church & Pond, 1990; Preston & Leng, 1990). Estas raciones generan un contenido ruminal constituido, principalmente, por ácido acético, aproximadamente en un 70 por ciento; con una relación proporcional de tres a uno en comparación con el ácido propiónico. Esta proporción se mantiene incluso en forrajes rugosos molidos o granulados, y en situaciones en que la ración está constituida en su totalidad por forraje (Mc Donald *et al*, 2006).

2.2.3. Obtención de energía de los AGV y metabolismo intermedio en dietas basadas en residuos de cosecha

a. Formación de ATP de los AGV en dietas basadas en residuos de cosecha

Formación de ATP en la fermentación ruminal

En los procesos de hidrólisis extracelular y degradación intracelular para la formación de los AGV y subproductos se libera energía en forma de ATP, la cual es utilizada en el mantenimiento y crecimiento de los microorganismos ruminales; principalmente en la síntesis de proteína microbiana (Preston & Leng, 1990; Bondi, 1989). Las ecuaciones que resumen las reacciones y energía obtenida en los procesos fermentativos se muestran a continuación en la figura 7.

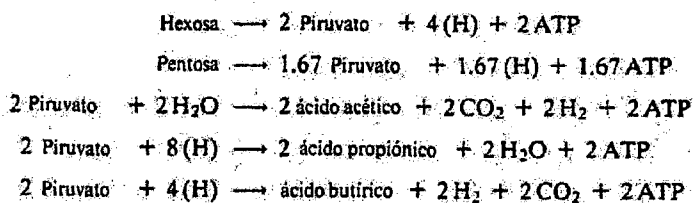


Fig. 7. Ecuaciones de la obtención de ácidos grasos volátiles y ATP.

FUENTE: Bondi (1989).

Formación de ATP a nivel tisular

La oxidación tisular de los AGV absorbidos también genera ATP; que es utilizado como energía de mantenimiento, síntesis de grasa o glucosa (Preston & Leng, 1990; Bondi, 1989).

Los ácidos butírico y acético generan energía al ser metabolizados en los tejidos. A partir de ellos se obtiene acetil-CoA que es oxidado vía ciclo del ácido tricarboxílico. Estos procesos generan 25 y 12 moles de ATP por cada mol de ácido butírico y ácido acético metabolizada, respectivamente (Bondi, 1989; Maynard *et al*, 1979).

El ácido propiónico está asociado a la obtención de glucosa. Este proceso comprende la obtención de glucosa y posterior obtención de energía por medio de la oxidación, vía ciclo del ácido tricarboxílico; y la obtención de glucosa para la formación de glucógeno y lactosa. Estos procesos generan una ganancia de 18 y 17 ATP por mol de ácido propiónico metabolizado, respectivamente (Bondi, 1989; Maynard *et al*, 1979).

b. Metabolismo intermedio en dietas basadas en residuos de cosecha

Los AGV representan productos iniciales en la síntesis de diferentes compuestos orgánicos en el metabolismo intermedio, al respecto, este efecto está más relacionado a las relaciones proporcionales en que estos ácidos se presentan que a la concentración parcial de uno de ellos (Kaufmann & Saelzer, 1991).

Síntesis de grasa

En este sentido, se menciona que una mayor relación proporcional entre el ácido acético y el ácido propiónico, está relacionada con un incremento importante de síntesis de grasa de la leche respecto a la deposición de lípidos en los tejidos adiposos del animal. En consecuencia, los alimentos que incrementan la concentración de ácido acético en el rumen, como en dietas basadas en residuos de cosecha, están asociados al aumento de grasa, principalmente, de la leche (Kaufmann & Saelzer, 1991; Bondi, 1989).

Síntesis de glucosa

En dietas a base de residuos de cosecha, subproductos agroindustriales y pastos secos, situaciones en que se mantiene una fermentación ruminal predominante en ácido acético, se absorbe poca cantidad de glucosa de la dieta, por lo tanto, la glucosa se obtiene por gluconeogénesis; a partir de ácido propiónico se sintetiza alrededor del 85 por ciento de la glucosa, la cual también se obtiene a partir de aminoácidos. Al respecto, la síntesis de glucosa a partir de aminoácidos está relacionada al nivel productivo del animal, en animales con un requerimiento proteico alto éstos se utilizan en la deposición de proteína, mientras, que en animales en mantenimiento o en el rumiante adulto no productivo los aminoácidos se desaminan y contribuyen en la disponibilidad de energía para oxidación y síntesis (Preston & Leng, 1990).

El control hormonal de la glucosa es mediado por la insulina y el glucagón, en relación a la ingesta de alimento y a los metabolitos circulantes; glucosa y AGV (Bondi, 1989).

c. Obtención de AGV a nivel intestinal y metabolismo

Los carbohidratos de origen alimenticio no degradados a nivel ruminal son fermentados a nivel intestinal. Los AGV obtenidos a nivel cecal se absorben a través del epitelio intestinal, vía circulatoria alcanzan y son utilizados en los tejidos bajo los mismos mecanismos que los producidos a nivel ruminal. Los ácidos propiónico y butírico son metabolizados a nivel hepático; mientras que el ácido acético, principalmente, a nivel de tejidos adiposo y muscular, y en menor porcentaje a nivel hepático (Bondi, 1989).

2.2.4 Metabolismo del nitrógeno en el rumen y su relación con la energía

El amoníaco, producto principal de la degradación proteica realizada por los microorganismos proteolíticos, es utilizado, de acuerdo a la disponibilidad de ATP, por los microorganismos ruminales en la síntesis, principalmente, de proteína y de los componentes nitrogenados de pared celular y ácidos nucleicos de su estructura (Bondi, 1989; Bartley & Deyoe, 1988; Orskov, 1988). El diagrama de la figura 8 resume las vías de ingreso y destino del amoníaco ruminal.

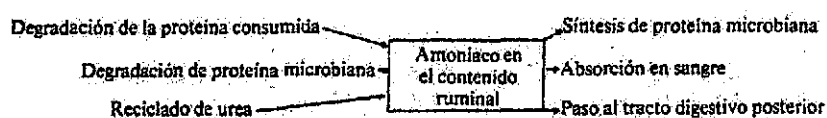


Fig. 8. Rutas metabólicas del amoníaco.

FUENTE: Bondi (1989).

a. Síntesis de proteína microbiana y densidad poblacional microbiana

La cantidad de proteína microbiana sintetizada está determinada por la densidad y velocidad de crecimiento de la población microbiana, las cuales están relacionadas a la eficiencia con que la población utiliza los sustratos disponibles, principalmente la energía y nitrógeno fermentables, al transformarlos en proteína microbiana (Satter & Roffler, 1988; Jarrige, 1981). Los microorganismos ruminales poseen la capacidad de incrementar la cantidad y calidad de la proteína de los alimentos fibrosos de mala calidad (Mc Donald *et al*, 2006). Sin embargo, un aporte insuficiente de nitrógeno fermentable limita la actividad y proliferación de la población microbiana (Jarrige, 1981).

La densidad poblacional se encuentra relacionada directamente a la disponibilidad de nutrientes, es decir, a la digestibilidad de la ración. Por lo tanto, la densidad poblacional es insuficiente para la degradación adecuada de los forrajes de baja calidad como las pajas. Las condiciones para una elevada actividad microbiana se limitan en relación al grado de lignificación del forraje, debido a que la baja

digestibilidad significa un aporte insuficiente de nitrógeno y carbohidrato rápidamente fermentable (Jarrige, 1981).

La degradabilidad de los compuestos nitrogenados está relacionada al tiempo que permanecen en el rumen, y a sus tasas de solubilidad y degradación enzimática; las cuales están asociados a sus características químicas como enlaces azufrados, número de posiciones accesibles para la hidrólisis y pH, así como, a sus características físicas como el área de superficie de la proteína expuesta a las proteasas (Preston & Leng, 1990; Jarrige, 1981). Al respecto, la actividad proteolítica del contenido ruminal está relacionada positivamente a la densidad de la población microbiana, debido a que la mayor parte de los microorganismos ruminales producen proteasas (Jarrige, 1981).

b. Concentración de amoníaco ruminal

Además de las características de la proteína de la ración y la digestibilidad de la misma; la frecuencia de ingesta de alimento, tipo de carbohidrato de la dieta, amplitud de degradación de la proteína de la dieta, pH ruminal y la sustitución de proteína verdadera de la dieta por nitrógeno no proteico (NNP) son factores adicionales relacionados a la concentración de amoníaco ruminal (Satter & Roffler, 1988). La concentración óptima de amoníaco ruminal para el máximo rendimiento microbiano difiere de la que permite un ritmo de fermentación óptimo y está asociada a la naturaleza del sustrato de la ración (Orskov, 1988).

La concentración de amoníaco ruminal está asociada, principalmente, al contenido de proteína en la ración, a la degradabilidad de la proteína y al nivel de suplementación (Preston & Leng, 1990).

Disminución en la concentración de amoníaco ruminal

La concentración de amoníaco ruminal disminuye en el fluido ruminal debido a su incorporación tanto en las células microbiales como al mismo fluido en el flujo hacia el tracto digestivo posterior, y por absorción a través de la pared ruminal (Preston & Leng, 1990). La disminución en su concentración disminuye la tasa de crecimiento de los microorganismos, la síntesis de proteína microbiana, la velocidad de degradación de los componentes de la ración, la digestibilidad, y el consumo voluntario (Mc Donald *et al*, 2006; Preston & Leng, 1990; Jarrige, 1981).

Aumento en la concentración de amoniaco ruminal

En situaciones en que la concentración de amoniaco es mayor a la capacidad de utilización por las bacterias, el amoniaco excedente es absorbido a través del retículo-rumen o en las partes siguientes del tracto digestivo y vía sanguínea es transportado al hígado donde es transformado en urea, la mayor parte de la cual es excretada en la orina y otra parte es reciclada al rumen, a través de la saliva o mediante un proceso de difusión directa a través de la pared ruminal (Bondi, 1989; Satter & Roffler, 1988).

Regulación de la concentración de amoniaco ruminal

El proceso de regulación acontece en relación a la concentración de amoniaco ruminal y ejerce efecto sobre la actividad ureolítica de los microorganismos ruminales (Bondi, 1989; Orskov, 1988).

En situaciones de aumento en la concentración de amoniaco ruminal; la urea, que ingresa como nitrógeno endógeno reciclado, se descompone a amoniaco por la ureasa bacteriana de las bacterias ureolíticas, principalmente, por las que se encuentran adheridas a la pared ruminal, las cuales incorporan urea al medio intracelular por simple difusión (Preston & Leng, 1990, Bondi, 1989).

El ingreso de urea al rumen también es posible en situaciones de baja concentración de amoniaco ruminal. Incluso a niveles moderados de consumo de nitrógeno, el movimiento de urea del plasma sanguíneo hacia el rumen por medio de la saliva y a través de la pared ruminal y su conservación en el organismo mediante una disminución en su excreción en la orina; son mecanismos para mantener el nivel de amoniaco ruminal por encima del nivel mínimo requerido por los microorganismos. (Preston & Leng, 1990). El flujo de nitrógeno al rumen se presenta en el esquema mostrado en la figura 9.

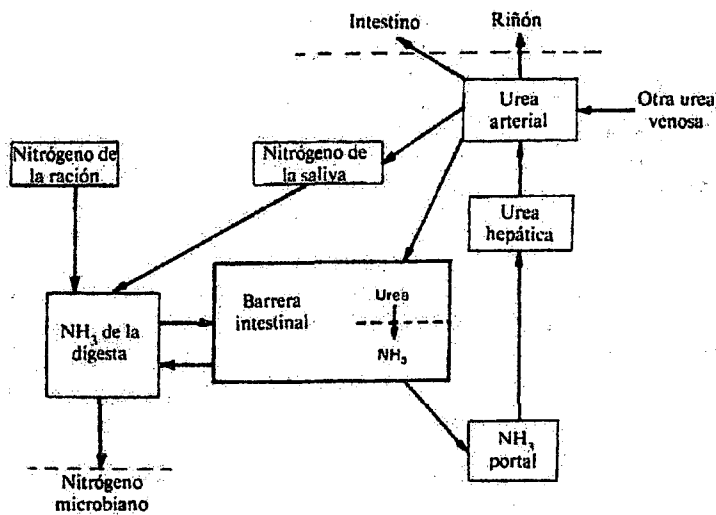


Fig. 9. Rutas del flujo de nitrógeno al rumen.

FUENTE: Bondi (1989).

Sin embargo, a niveles bajos de consumo de nitrógeno, el nivel de nitrógeno reciclado a través de la urea plasmática es insuficiente como abastecimiento de nitrógeno para los microorganismos ruminales, en este sentido, niveles continuos de urea adicionales con el alimento son recomendables. A fin de mantener un nivel alto de amoníaco en el líquido ruminal, en forma prolongada durante el día, el ingreso de urea al rumen debe ser constante (Preston & Leng, 1990).

c. Fuentes nitrogenadas para la obtención de amoníaco

Los microorganismos ruminales requieren de fuentes nitrogenadas para la obtención de amoníaco. Las fuentes de las que disponen son la proteína de la dieta, el nitrógeno no proteico (NNP) de la dieta, el nitrógeno reciclado al rumen de la saliva y la urea que atraviesa la pared ruminal (Satter & Roffler, 1988). El ingreso de nitrógeno al rumen se diagrama figura 10.

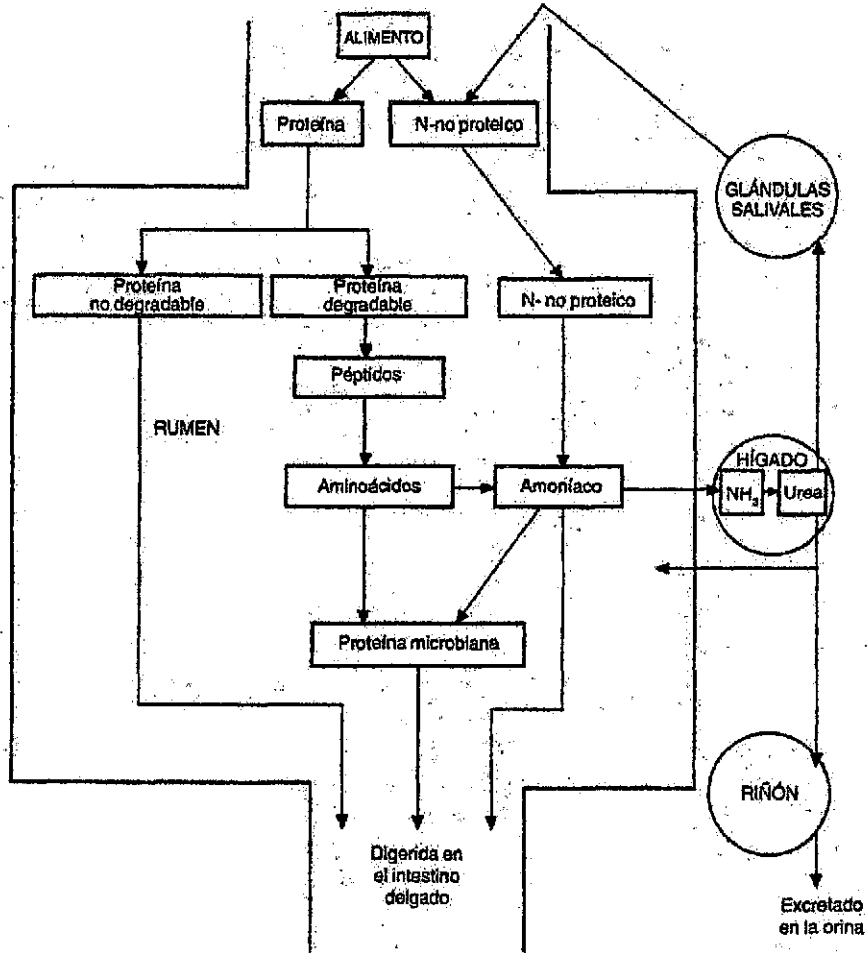


Fig. 10. Fuentes nitrogenadas para la obtención ruminal de amoníaco.

FUENTE: McDonald, *et al* (2006).

El amoníaco obtenido representa la fracción de nitrógeno amoniacal del nitrógeno disuelto del *pool* de nitrógeno ruminal. El *pool* de nitrógeno ruminal está constituido por nitrógeno insoluble (aproximadamente 90 por ciento) y nitrógeno disuelto (aprox. 10 por ciento). El nitrógeno insoluble comprende los microorganismos ruminales (aprox. 60-90 por ciento) y la proteína no degradada de la dieta junto a las células descamadas del epitelio ruminal (aprox. 10-40 por ciento). Mientras que el nitrógeno disuelto; el nitrógeno amoniacal (aprox. 70 por ciento) y aminoácidos libres y péptidos (aprox. 30 por ciento) (Bondi, 1989).

Proteína de la dieta

La proteína ingerida puede ser degradada en el rumen, alcanzar las partes siguientes del tracto digestivo para ser digerida o ser excretada en las heces (Satter & Roffler, 1988). La mayor parte de la proteína ingerida es degradada por los microorganismos ruminales proteolíticos por acción de sus proteasas a un pH comprendido entre 6 y 7 (Bondi, 1989). Los productos obtenidos en este proceso son péptidos, los cuales son degradados hasta aminoácidos libres por las peptidasas y éstos mediante desaminación; a amoníaco, ácidos grasos volátiles de cadena ramificada y dióxido de carbono, junto a un esqueleto hidrocarbonado (Bondi, 1989; Bartley & Deyoe, 1988).

Nitrógeno no proteico de la dieta

En situaciones en que los rumiantes se alimentan con dietas basadas en residuos de cosecha, la urea o sales amoniacales son fuentes apropiadas de nitrógeno fermentable (Preston & Leng, 1990). Las sales de nitrato representan, igualmente, fuentes de nitrógeno fermentable recomendables para este fin, en razón a que reducen la formación de metano en forma considerable, sin embargo, las tasas de consumo voluntario, de digestibilidad de materia seca y síntesis de proteína microbiana se mantienen constantes (Devendra & Leng, 2011). En situaciones en que parte de la proteína de la dieta fibrosa es reemplazada por NNP, disminuye la cantidad de proteína de la dieta que escapa de la degradación ruminal y aumenta la cantidad de nitrógeno que es transformado a amoníaco, es decir, influye positivamente en el consumo y digestibilidad de forrajes de baja calidad (Satter & Roffler, 1988; Elías, 1986). Sin embargo, el amoníaco producido a partir de NNP requiere de una fuente de carbohidrato apropiada que aporte las cadenas carbonadas y la energía necesaria para la síntesis de proteína microbiana. Un factor relacionado a este aporte es la velocidad de degradación del carbohidrato, la cual es menor en carbohidratos con alto contenido de fibra y más incrementada en azúcares simples (Bartley & Deyoe, 1988).

El NNP de los forrajes verdes contenido, principalmente, en los tejidos conductores del aparato vegetativo de éstos, representan junto con la urea, las fuentes nitrogenadas más rápidamente disponibles para la población microbiana. En los tejidos vegetales, el NNP se presenta en mayor proporción en los tallos que en las hojas y, en las leguminosas más que en las gramíneas (Jarrige, 1981).

Urea de la dieta

La síntesis de proteína microbiana será óptima en situaciones en que el sustrato energético sea fácilmente utilizable y se suministre junto a una fuente de NNP o de proteína soluble, ya que la solubilidad de ésta determina la velocidad con que acontece la formación de amoníaco (Bartley & Deyoe, 1988). Entre las fuentes de nitrógeno altamente solubles se menciona la urea, la cual se descompone mediante un proceso de hidrólisis bastante rápido (Bondi, 1989; Maynard *et al*, 1979). La utilización adecuada de urea como suplemento en la dieta debe considerar sus características intrínsecas, entre éstas se menciona; deficiencia en minerales, ausencia de metionina y cistina, carencia de valor energético propio debido a la ausencia de carbohidratos en su estructura, y alta solubilidad. Entre las principales recomendaciones para su adecuada utilización se menciona definir adecuadamente su nivel en la dieta, la adaptación progresiva de los animales con rumen funcional desarrollado, la adición de cantidades adecuadas de minerales inorgánicos, así como, de una fuente de energía de fácil disponibilidad (Mc Donald *et al*, 2006; Elías, 1986; Maynard *et al*, 1979; Hafez, 1973).

d. Asociación urea y melaza

El cambio progresivo en la composición de la flora ruminal es responsable del mecanismo de adaptación a la urea (Hafez, 1973). Así mismo, la urea debe suministrarse en cantidades en que se libere en forma proporcional a la capacidad de asimilación de los microorganismos, es decir, en forma sincronizada con la liberación de energía (Bartley & Deyoe, 1988; Jarrige *et al*, 1981; Maynard *et al*, 1979). En este sentido, suministrarla a bajos niveles y en dietas mezcladas ofrecidas *ad libitum*; son criterios recomendables en el cumplimiento de esta condición (Maynard *et al*, 1979). Entre las fuentes de carbohidrato fácilmente degradable y asociable a la urea se menciona a la melaza (Bondi, 1989; Jarrige, 1981). Al respecto, la melaza es utilizada como carbohidrato fermentable en la suplementación de dietas fibrosas como vehículo de urea y minerales, y como agente gelatinizante de bloques multinutricionales. Adicionalmente, se menciona que es fuente de micro y macro elementos entre los que se incluyen azufre, calcio y potasio (Preston & Leng, 1990). Los rumiantes reciben urea en forma de suplementos mezclados con el forraje, en bloques o cubos a los que pueden acceder libremente, y en forma de suplementos líquidos constituidos generalmente por mezclas de urea y melaza que reciben en forma controlada (Buck *et al*, 1981).

e. Intoxicación por urea

El suministro de urea se justifica en la suplementación de dietas con bajo nivel proteico, a fin de optimizar la concentración de amoníaco ruminal (Mc Donald *et al*, 2006; Maynard *et al*, 1979). La administración de grandes cantidades de urea o sales de amonio conlleva a una alta concentración de amoníaco ruminal que puede estar asociada al riesgo de intoxicación.

Factores asociados al riesgo de intoxicación por urea

Entre los factores que incrementan el riesgo de intoxicación se menciona la edad de los animales, el suministro de altos niveles de agua, el suministro de la ración suplementada con urea a animales desprovistos de alimento por más de un día, ofrecer dietas suplementadas con urea a animales con alteración de la función hepática, elevado pH en el rumen, formulación incorrecta de la ración que contiene urea, el mezclado ineficiente de la ración suplementada con urea, la sedimentación de urea en una mezcla suelta, la distribución de urea fuera de los comederos, así como, el ablandamiento de los bloques preparados de urea (Preston & Leng, 1990; Buck *et al*, 1981).

Reseña de la fisiopatología de la intoxicación por urea

En situaciones en que los mecanismos de detoxicación por conversión del amoníaco en urea son sobrepasados, la concentración de amoníaco condiciona un medio ruminal alcalino, en consecuencia, se reduce la disociación del amoníaco. El amoníaco en su forma no ionizada, se absorbe a través del epitelio ruminal y, en relación a la concentración sanguínea del mismo, supera la capacidad tampón de la sangre. En consecuencia, la disminución del pH sanguíneo establece un estado de acidosis metabólica que podría no resolverse. El pronóstico del cuadro clínico se encuentra asociado a la concentración de amoníaco sanguíneo a la capacidad de compensación metabólica y a la prontitud de la asistencia clínica. (Blood *et al*, 2002; Bondi, 1989; Bartley & Deyoe, 1988; Buck *et al*, 1981). Sin embargo, es posible que se presenten formas menos severas de intoxicación que están asociadas a una disminución de la tasa de crecimiento en ausencia de signos clínicos. Por lo tanto, es recomendable que el consumo de urea esté limitado al nivel mínimo necesario para asegurar un buen aprovechamiento del alimento disponible (Preston & Leng, 1990).

2.3. LA CAÑA DE AZÚCAR COMO FUENTE DE ALIMENTO ANIMAL

2.3.1 La caña de azúcar en un sistema integral de producción

La caña de azúcar, *Saccharum officinarum* L., es un cultivo perenne, con bajo contenido proteico, apto de ser cosechado y deshojado a diferentes intervalos de tiempo conservando su valor. Este cultivo energético multipropósito posee potencial para la producción de alimento animal, humano y de energía en forma de combustible. Así mismo, maximiza la captura de energía solar y la conversión de ésta en biomasa, cualidad que le aporta capacidad de integrar sistemas integrales de producción (Preston, 1983). En consecuencia, es uno de los cultivos perennes de mayor productividad, en relación a la producción total por unidad de superficie (Devendra & Leng, 2011; Preston & Leng, 1990; Pigden, 1974).

Las principales limitantes en la explotación de la caña de azúcar como alimento animal son la fuerte cubierta protectora de su estructura y el concepto tradicional de ser fuente de consumo humano costoso para integrar sistemas de alimentación de animales (Pigden, 1974).

a. Factores de la caña de azúcar asociados a la utilización de biomasa

Los principales factores que le confieren a la caña de azúcar la capacidad de optimizar la utilización de la biomasa son los siguientes (Preston & Leng, 1990):

- Las vías de C-4 para la fotosíntesis, que le aportan el potencial de producción y alta eficiencia en la captación de energía solar.
- Los requerimientos de la industria azucarera a gran escala, debido a que éstos promueven el desarrollo de características agronómicas que facilitan el fraccionamiento de la planta.

- Las características propias de la caña, que permiten su utilización como monocultivo con uso mínimo de insumos derivados del combustible fósil; entre las que se menciona, crecimiento perenne, resistencia a enfermedades, mantenimiento de fertilidad y reducción de la erosión del suelo.

b. Sistema integral de producción con caña de azúcar

Los sistemas integrales de producción se fundamentan en la interrelación de todos sus componentes, así como, en el aprovechamiento de toda su biomasa dentro del sistema. Dentro de estos sistemas, la ventaja de la utilización de cultivos como la caña de azúcar es que permite la conservación de residuos y sub productos mientras se procesa toda la biomasa. De esta manera, se destina a la alimentación animal las porciones constituidas por los componentes biodegradables de su biomasa; mientras que las porciones de mayor contenido de pared celular indigestible, se reservan como fuente de combustible (Preston, 1983). El diagrama de la figura 11 muestra el fraccionamiento descrito.

La eficiencia en la utilización de la biomasa considera la mayor conversión de energía solar en biomasa a lo largo del año mientras se mantiene la producción de alimento. Esta eficiencia se incrementa, y específicamente el desperdicio de biomasa se minimiza, mediante el reciclaje de los desechos. Estos residuos están representados por los desechos animales y otros provenientes de arbustos de leguminosas y árboles, los cuales se utilizan en forma de combustible y en la fertilización de los suelos a fin de disminuir la utilización de fertilizantes (Preston, 1983).

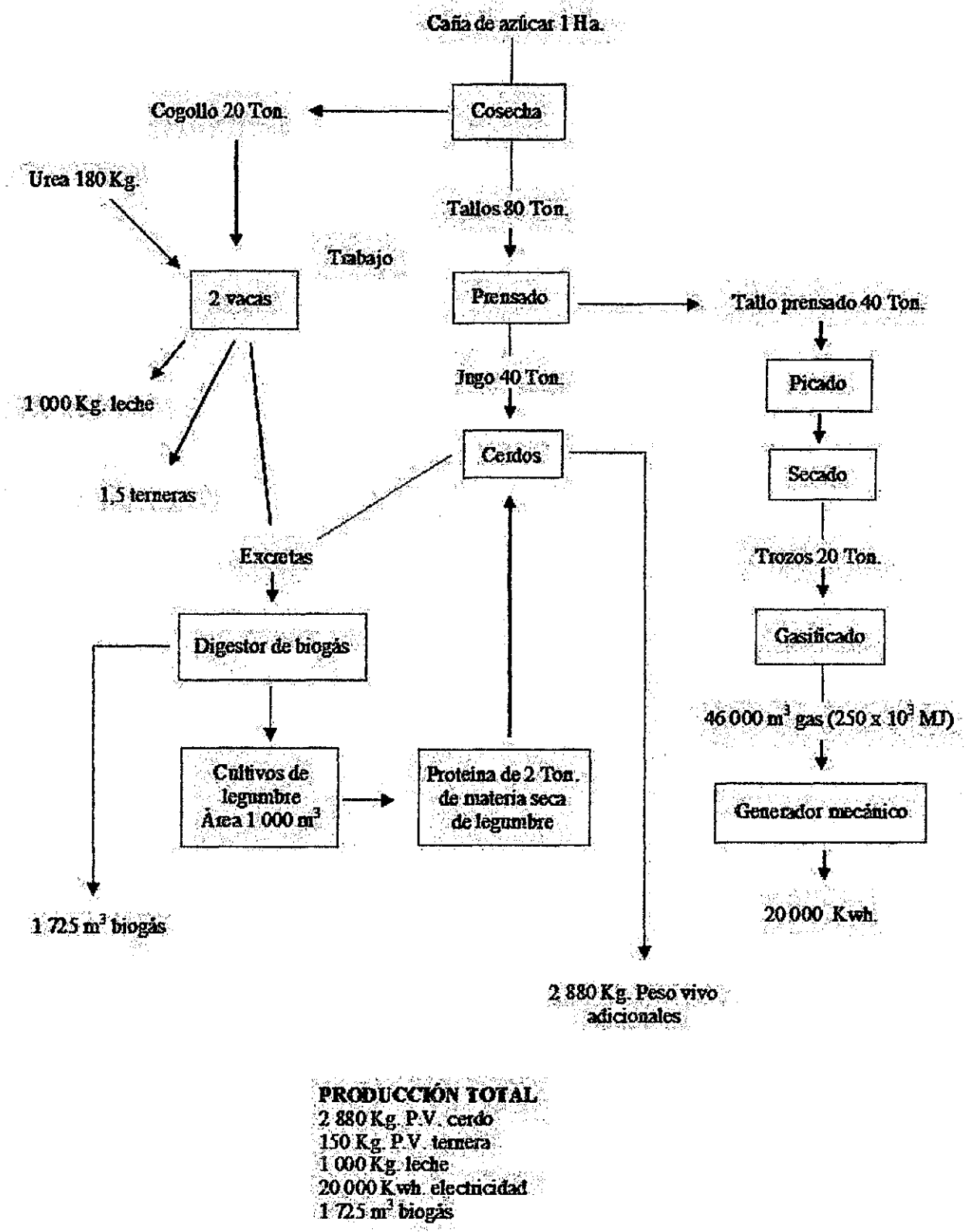


Fig. 11. La caña de azúcar como fuente alimenticia y energética en un sistema integral de producción.

FUENTE: Preston (1983).

Dentro de este sistema, todos los componentes de la caña de azúcar son considerados biomasa energética utilizable, en forma de alimento o de combustible. En su utilización como alimento animal, la suplementación con nitrógeno es suficiente para una fermentación ruminal eficiente, en este aspecto, la fuente nitrogenada es también un cultivo del sistema; como se aprecia en el siguiente esquema de la figura 12 (Preston, 1983).

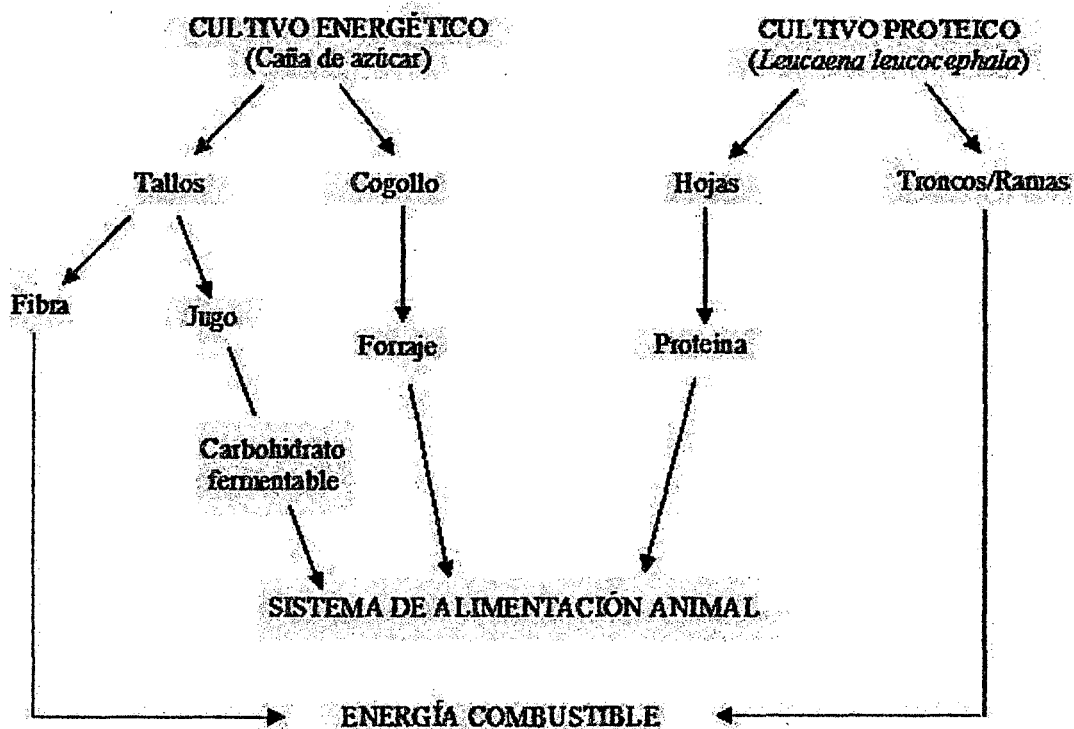


Fig. 12. Suplementación de la caña de azúcar en un sistema integral de producción.
FUENTE: Preston (1983).

c. Fraccionamiento de la caña de azúcar

La caña de azúcar conserva gran parte de su calidad hasta una semana después de su cosecha (Pigden, 1974). En la optimización de su utilización sus componentes deben fraccionarse en solubles e insolubles, en éstos últimos se incluye los que poseen mayor contenido de pared celular (Preston & Leng, 1990).

El fraccionamiento divide a la caña entera en tres fracciones; la corteza y médula, que se obtienen del tallo, y el cogollo, denominado también fracción aérea. La invención de separadores de caña, de uso inicialmente industrial; facilitó la separación del tallo en corteza y médula, esta tecnificación del fraccionamiento del tallo, mediante la metodología Miller & Tilby, permitió mayor utilización de la caña de azúcar en la alimentación animal debido, principalmente, a la rapidez de este proceso y a la disponibilidad de las fracciones obtenidas (Preston & Leng, 1990; Donefer & Latrille, 1979; Pigden, 1974). La principal limitante en la aplicación de esta metodología es el elevado costo de la maquinaria, en consecuencia, en los países en vías de desarrollo la caña se suministra en su forma entera picada (Preston & Leng, 1990).

La corteza del tallo de la caña de azúcar

La corteza del tallo representa aproximadamente el 15 por ciento del mismo, es utilizada como alimento animal y también en otros propósitos industriales, principalmente energéticos. Esta fracción posee un valor nutritivo bajo debido a su alto contenido en lignina, celulosa y ceras. A fin de incrementar la digestibilidad de la dieta es recomendable retirarla de la composición de la ración (Donefer & Latrille, 1979; Pigden, 1974).

La médula del tallo de la caña de azúcar

La médula es la fracción con mayor contenido energético y altamente palatable, está constituida por células de almacenaje de carbohidratos y por bandas fibrovasculares que constituyen su estructura. El valor nutricional de la médula está representado, principalmente, por su alto contenido de sacarosa, aproximadamente 55 por ciento de la materia seca, la cual representa aproximadamente el 30 por ciento de la planta; posee 2 y 68 por ciento, aproximadamente, de proteína y energía digestible, respectivamente. Debido al alto contenido de energía fermenta en forma eficiente y favorece la acidificación de los ensilados. Así mismo, puede ser sometida a procesos de secado y peletizado (Pigden, 1974). Las raciones basadas en médula de caña de azúcar deben ser suplementadas con proteína, minerales y vitaminas (Preston & Leng, 1990; Pigden, 1974).

2.3.2 La caña de azúcar a nivel industrial

a. Sistemas industriales de caña de azúcar

Existen dos metodologías principales en el procesamiento industrial de la caña de azúcar; el sistema artesanal o a pequeña escala, y el procesamiento industrial propiamente dicho. Este último se realiza en los ingenios azucareros y produce la mayor cantidad de subproductos, siendo el principal, la miel final o melaza. La extracción de sacarosa es el objetivo de ambas metodologías, la cual es obtenida como azúcar cristalina en los ingenios azucareros y en forma de panela a nivel artesanal, como se aprecia en los esquemas de la figura 13 (Preston & Leng, 1990).

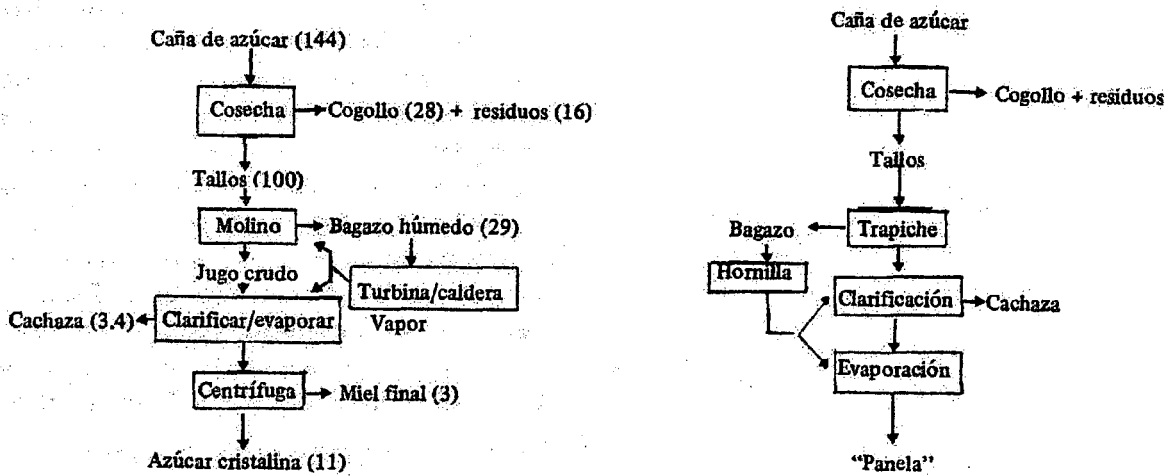


Fig. 13. Obtención de azúcar, residuos y subproductos en el procesamiento industrial de la caña de azúcar.

FUENTE: Preston & Leng (1990).

En ambos sistemas son los tallos los que ingresan al proceso industrial; las hojas o cogollos y los tallos maltratados son retirados en la finca, constituyendo residuos del proceso de cosecha; el bagazo y la miel final son los subproductos industriales. La cosecha de la caña de azúcar se realiza, generalmente, durante la época de sequía; en consecuencia, es la época de mayor disponibilidad de estos materiales (Preston & Leng, 1990; Donefer & Latrille, 1979; O'Donovan, 1975; Pigden, 1974).

b. Subproductos del procesamiento industrial de la caña de azúcar

Los residuos de cosecha y subproductos industriales de la caña de azúcar pueden incorporarse en la alimentación de rumiantes, debido principalmente a su disponibilidad (Preston & Leng, 1990; Donefer & Latrille, 1979).

Miel final

La miel final, que representa el 3 por ciento de los productos obtenidos, puede destinarse a consumo animal o ser utilizada como fuente de combustible en forma de etanol (Preston & Leng, 1990).

En la alimentación de rumiantes es utilizada como fuente de carbohidrato altamente fermentable que representa la base de la dieta, como vehículo de nutrientes esenciales (urea y minerales) en la suplementación de dietas fibrosas, como agente gelatinizante en la elaboración de bloques multinutricionales y, como fuente de micro y macro minerales, especialmente, azufre, calcio y fósforo. La principal cualidad que permite su incorporación en los sistemas de alimentación, bajo las formas mencionadas, es su palatabilidad (Preston & Leng, 1990; Church, 1984).

Es importante resaltar que como vehículo de nitrógeno fermentable se demuestra su eficiencia en la alimentación de rumiantes. Así mismo, en periodos de baja precipitación y sequías ocasionales en el trópico, es considerada como uno de los únicos alimentos disponibles para consumo animal (Preston & Leng, 1990). La miel de caña se utiliza tradicionalmente en la elaboración de alcohol potable, razón que condiciona situaciones de competencia entre los ganaderos y la industria (O'Donovan, 1975).

Bagazo de caña de azúcar

En situaciones en que la caña entera desprovista de jugo, bagazo, se destina a consumo animal el valor nutritivo es menor debido al alto contenido del complejo lignocelulosa de la corteza y a que posee, aproximadamente, 2 por ciento de proteína. Es recomendable la separación de la corteza a fin de incrementar su valor nutritivo, sin embargo, es igualmente limitado. En consecuencia, el valor nutritivo del bagazo es insuficiente para aportar los requerimientos de mantenimiento de rumiantes (Donefer & Latrille, 1979).

Sin embargo, se menciona que suministrado *ad libitum* a cabras, inmediatamente después de la extracción del jugo, éstas seleccionan las fracciones medulares y rechazan las corticales (Preston & Leng, 1990). Igualmente se menciona, que suministrado en forma moderada y adecuadamente suplementado con proteína y energía favorece la ganancia de peso (O'Donovan, 1975). Generalmente, es utilizado como fuente de combustible en los ingenios y como materia prima en la industria del papel y pizarras (Donefer & Latrille, 1979).

2.3.3 El cogollo de caña de azúcar

El cogollo es la porción de la caña de azúcar que captura y almacena la energía solar en forma de carbohidratos (Pigden, 1974).

a. Recolección de cogollo de caña de azúcar

Recolección como residuo de cosecha

Al momento de la cosecha de la caña para ser transportada al ingenio, las hojas pueden ser quemadas o separadas de los tallos para su recolección (O'Donovan, 1975). En este sentido, la utilización del cogollo en los sistemas de alimentación animal se encuentra limitado debido, principalmente, al costo de la cosecha y del transporte del material debido a su volumen (Preston & Leng, 1990). En regiones en donde el costo de mano de obra es menor, el cogollo representa una fuente de alimento económica (O'Donovan, 1975). La quema del cogollo antes de la cosecha de la caña disminuye su disponibilidad en forma considerable (Preston & Leng, 1990). En general, es desechado en el campo sin ser cuantificado adecuadamente, en consecuencia, el potencial de la caña entera es subestimado (Pigden, 1974).

Recolección como reserva alimenticia

En situaciones en que la producción de caña de azúcar es con fines de reserva alimenticia, el cogollo fresco puede ser recolectado según las cantidades necesarias diarias (Mui *et al*, 1997; FAO, 1988; Preston, 1983). Así mismo, los pequeños productores lo recolectan mediante la utilización de animales de tracción (Preston & Leng, 1990).

b. Potencial del cogollo de caña de azúcar como forraje

Rendimiento de cogollo por hectárea

Una hectárea de caña de azúcar contiene, aproximadamente, 100 toneladas de caña entera, las cuales están constituidas por 80 toneladas de tallos y 20 toneladas de cogollo (FAO, 1988; Preston, 1983; Pigden, 1974) (Figura 11).

Composición nutricional del cogollo

El contenido de proteína del cogollo es de, aproximadamente, 5 por ciento de la materia seca, y representa el mayor contenido de proteína de la planta (Chiclayo, 1988; Calderón, 1983; Donefer & Latrille, 1979).

La composición nutricional del cogollo varía en relación a factores propios de la planta y del suelo, como la variedad de caña de azúcar y la región geográfica (Moore, 1978). En la costa norte del Perú se ha reportado que el cogollo fresco posee en promedio 28,5 por ciento de materia seca; 9,01 por ciento de ceniza; 5,7 por ciento de proteína cruda; 36,7 por ciento de fibra cruda; 1,28 por ciento de extracto etéreo; 47,34 por ciento de extracto libre de nitrógeno; 82,62 por ciento de fibra detergente neutra; 50,07 por ciento de fibra detergente ácida; 35,48 por ciento de celulosa; 32,55 por ciento de hemicelulosa; 9,47 por ciento de lignina; y 3,35 por ciento de sílice (Calderón, 1983).

c. Formas de suministro del cogollo de caña de azúcar

Mezcla de cogollo y médula de caña de azúcar

El cogollo puede ser suministrado en trozos a rumiantes en una mezcla con médula de caña, en proporciones iguales. Esta mezcla posee un alto contenido en celulosa y, aproximadamente, 3 por ciento de proteína, y 68 por ciento de energía digestible (Donefer & Latrille, 1979; Pigden, 1974). Debido al contenido de médula, la mezcla favorece la formación de ensilados ácidos, así mismo, debe ser suplementada con nitrógeno no proteico, vitaminas y minerales, y otras fuentes energéticas (Pigden, 1974). Estas mezclas frescas suplementadas adecuadamente favorecen la ganancia de peso en ovinos en comparación con las mezclas ensiladas. En bovinos, estas mezclas mantienen la producción y composición de la leche y la condición corporal; al reemplazar el 50 por ciento del forraje fresco y del concentrado (Pigden, 1974).

Cogollo como ingrediente base de la dieta

El cogollo también es utilizado como único ingrediente de dietas base de mantenimiento de animales de trabajo, logrando incrementar el consumo voluntario debido a que la energía disponible por la formación de acetato es utilizada de acuerdo a la intensidad de trabajo (Preston & Leng, 1990). Igualmente, en ganado vacuno es utilizado en dietas de mantenimiento y es normalmente aceptado por los rumiantes (O'Donovan, 1975; Naseeven, 1988).

A fin de conservar su valor nutritivo debe ser colectado durante la cosecha y suministrado picado en mezclas, de esta manera, se facilita la digestión de sus porciones fibrosas; así mismo, la elaboración de ensilados permite disponer de alimento de reserva (O'Donovan, 1975; Tuyet, 2005).

d. Suplementación y tratamientos del cogollo

El cogollo de caña de azúcar favorece incrementos en las tasas de crecimiento únicamente al suministrarse adecuadamente suplementado con nitrógeno y energía (Preston & Leng, 1990; O'Donovan, 1975).

En dietas de cogollo suplementadas con *Leucaena leucocephala*, se obtuvieron incrementos de carcasa incluso al observarse incrementos bajos de las tasas de consumo voluntario (Jotee, 1986).

Igualmente, se obtuvieron tasas altas de crecimiento en dietas de cogollo suplementadas con urea y pulidura de arroz. Sin embargo, en comparación con dietas similares de médula de caña de azúcar, éstas favorecen mayor eficiencia alimenticia, debido a la alta concentración de carbohidratos solubles y, en consecuencia, mayor formación de ácido propiónico a nivel ruminal (Preston & Leng, 1990).

Así mismo, las ganancias de peso observadas para mezclas de cogollo con forrajes frescos y suplementadas con bloques mutlinutricionales son mayores durante la época seca (Mui *et al*, 1997).

En relación al efecto de tratamientos químicos; las ganancias de peso observadas en mezclas de cogollo, urea y melaza son mayores para mezclas tratadas previamente con hidróxido de sodio (Quesada, 1995). El tratamiento químico del cogollo con urea y melaza parece ejercer poco efecto sobre la digestibilidad de la materia seca, sin embargo, incrementa el nivel de proteína cruda (Naseeven, 1988). En este aspecto, los niveles de proteína cruda y fibra cruda de mezclas de cogollo, urea y melaza se incrementan mediante el tratamiento previo con hidróxido de sodio, sin embargo, los niveles de materia orgánica y materia seca disminuyen (Quesada, 1995).

En relación a los procesamientos físicos del cogollo, se evaluaron comprimidos deshidratados de cogollo a fin de conservarlo para su utilización en épocas de sequía. Estos comprimidos fueron suministrados en dietas suplementadas con concentrado y 50, 70 y 90 por ciento de urea. Los niveles de conversión alimenticia y ganancia de peso, así como, los valores de los coeficientes de digestibilidad *in vivo* y de retención de nitrógeno fueron mayores en los grupos suplementados con el menor nivel de urea. Los niveles de amoniaco ruminal, proteína microbiana y concentración ruminal de ácidos grasos volátiles individuales y totales, así como, los valores sanguíneos de urea fueron mayores en los grupos suplementados con urea (Shultz et al, 1978).

En la preparación de ensilajes de cogollo se observaron disminuciones mayores del contenido de lignina, fibra detergente neutra, fibra detergente ácida, ceniza y sílice e incrementos de la materia seca en los ensilajes tratados con urea en comparación con los que recibieron tratamientos de sulfato de amonio, sin embargo, el contenido de proteína cruda fue similar entre los tratamientos (Tuyet, 2005).

El coeficiente de digestibilidad *in vitro* del ensilaje de cogollo de caña de azúcar (DIV) ha sido correlacionado al contenido de fibra cruda (FC) y de fibra detergente neutra (FDN) mediante análisis de regresión lineal simple. Las ecuaciones obtenidas fueron $DIV = 71,84 - 1,01 FC$; y $DIV = 94,68 - 0,83 FDN$; respectivamente (Rodríguez, 1976).

2.3.4 El momento de cosecha de la caña de azúcar y su relación con la digestibilidad

a. Determinación del índice de madurez de la caña para la cosecha

La mayor parte de la producción de la caña de azúcar se realiza con fines industriales, lo cual exige determinadas características del cultivo para ser cosechado a fin de obtener el producto final, azúcar refinada, en forma óptima. En este sentido, uno de los factores con mayor importancia en la evaluación de la caña es el contenido de sólidos solubles, principalmente sacarosa, el cual se obtiene mediante el cálculo del índice de madurez y que se interpreta en grados Brix (FAO, 2007).

El índice de madurez de la caña de azúcar se obtiene con el refractómetro y se le clasifica como caña inmadura, cuando la medición es menor de 0,95° Brix; madura, entre 0,95 a 1° Brix y; sobre madura, mayor a 1° Brix. La industria requiere cañas maduras con alto contenido de sacarosa, es decir, con una densidad entre 0,95 y 1° Brix; o expresado en densidad de jugo de caña equivalente a 19° Brix (FAO, 2007).

Durante la estación seca, donde predominan los bajos niveles de temperatura, principalmente, en regiones de suelos con bajo nivel de humedad y bajo contenido de nitrógeno, se estimula el almacenaje de sacarosa en la planta, condición que favorece la cosecha (Preston & Leng, 1990; Donefer & Latrille, 1979).

b. Factores relacionados a la concentración de sacarosa

Los principales factores que influyen en la concentración de sacarosa son la edad, denominada período vegetativo del cultivo, la variedad, suelo, clima, luminosidad en que se desarrolla el cultivo y, principalmente, la altitud. Esta última se encuentra relacionada a la concentración de sacarosa en forma directamente proporcional. A menor altitud la concentración es menor y ésta se incrementa hasta resultar en un máximo teórico de 26 por ciento (FAO, 2007).

En regiones ubicadas entre los 800 y 1.500 m.s.n.m., la concentración de sólidos solubles en el jugo, puede variar en épocas de lluvia entre 17 y 19° Brix y, en épocas secas, entre 19 y 22° Brix. De acuerdo a la variedad, de 0 a 600 m.s.n.m. la caña

alcanza la madurez entre los 11 y 12 meses; de 600 a 1 200 m.s.n.m., entre los 12 y 15 meses y; de 1 200 a 1 600 m.s.n.m., entre los 14 y 18 meses de edad (FAO, 2007).

c. Proceso de lignificación de la caña de azúcar

El valor excepcional de la caña de azúcar, como alimento energético, se incrementa de acuerdo al proceso de maduración, sin embargo, el aumento en la concentración de sacarosa es directamente proporcional al proceso de lignificación de las paredes celulares de las hojas y tallos (Preston & Leng, 1990; Donefer & Latrille, 1979).

A nivel industrial el contenido de fibra no afecta la capacidad de procesamiento industrial en situaciones en que se dispone de maquinaria de potencia en forma ilimitada. En este sentido, el sector azucarero propone que la potencia se calcule en relación a las toneladas de fibra que se procesan en el molino por unidad de tiempo, en lugar que las respectivas de caña (FAO, 2007).

d. Evaluación nutricional del cogollo de caña de azúcar

En la evaluación industrial de la caña de azúcar es importante la determinación de la densidad en grados Brix, sin embargo, en su evaluación como fuente alimenticia de rumiantes, corresponde el análisis de paredes celulares descrito por Van Soest. La fracción de fibra detergente neutra ofrece información importante en la determinación de los azúcares totales de la caña entera. En este sentido, los procedimientos químicos e *in vitro*, especialmente del cogollo y bagazo de caña, aportan información adecuada de su valor nutritivo (Donefer & Latrille, 1979).

Entre las formas más efectivas de influenciar positivamente la digestibilidad de los forrajes altamente fibrosos se menciona el tiempo de corte del vegetal, en razón a que la digestibilidad de su materia seca es mayor a menor estado vegetativo (Minson, 1990; Moore, 1981; Kaufmann & Saelzer, 1991). Esta condición favorece la utilización del cogollo en situaciones en que la caña de azúcar se cultiva con fines de reserva alimenticia en donde puede ser recolectado según las cantidades necesarias diarias (Mui *et al*, 1997; FAO, 1988; Preston, 1983). Sin embargo, cuando su utilización se limita a su disponibilidad como residuo de cosecha el estado de madurez de la caña y las condiciones de agoste al momento de la cosecha representan factores que condicionan su digestibilidad (Minson, 1990; Moore, 1981).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Esquema del estudio

El objetivo del presente experimento fue determinar las proporciones de suplementación de urea y melaza más eficientes en el incremento de la digestibilidad *in vitro* del cogollo de caña de azúcar. Este estudio se realizó de la siguiente manera:

- Se obtuvieron cortes de cogollo fresco de caña de azúcar.
- Se designaron tratamientos de suplementación de urea y melaza al 1, 2 y 3 por ciento, respectivamente, mediante la metodología de superficie de respuesta que considera el Diseño Central Rotable.
- Se determinó los coeficientes de digestibilidad *in vitro* de la materia seca de cada uno de los tratamientos asignados.
- Los coeficientes obtenidos se evaluaron mediante el Diseño Central Rotable establecido.

3.2. Muestras de cogollo de caña de azúcar

Se utilizó muestras de cogollo fresco de caña de azúcar procedentes de los campos experimentales del Proyecto Caña de Azúcar de la Estación Experimental del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) Vista Florida (Fig. 14). Esta estación experimental se encuentra situada en la localidad Vista Florida, en el distrito Picsi, provincia Chiclayo de la región Lambayeque; a una altitud de 30 msnm, y una latitud sur de 6°45'30", y longitud oeste de 79°50'45".

Las muestras de cogollo de caña de azúcar corresponden a la variedad PCG12-745, también denominada Azul Casa Grande, cosechadas en febrero del año 2012 a la edad de 13,5 meses, con un nivel de sacarosa de 13,68 por ciento. Esta variedad es una de las más abundantes del Perú y presenta mayor resistencia a determinadas enfermedades (Ruesta, 2011). Los campos de cultivo de la caña de azúcar de donde procedía el cogollo evaluado fueron fertilizados con urea a razón de 240 Kg de N/ha, distribuidos en dos aplicaciones. El 50 por ciento al mes de la cosecha y la segunda, a los 35 días después de la primera aplicación. La hoja de características de campo de los

cultivos de caña variedad PCG12-745 del Proyecto Caña de Azúcar de la Estación Experimental INIA Vista Florida se muestra en el Anexo 2.

Se determinó los valores de materia seca, proteína y fibra detergente ácida de la muestra de cogollo en mención, a fin de complementar su caracterización química; mediante el análisis proximal de Weende y el análisis de componentes de pared celular de Van Soest, respectivamente. Los valores determinados fueron 43,94; 7,02 y 48,23 por ciento, respectivamente.

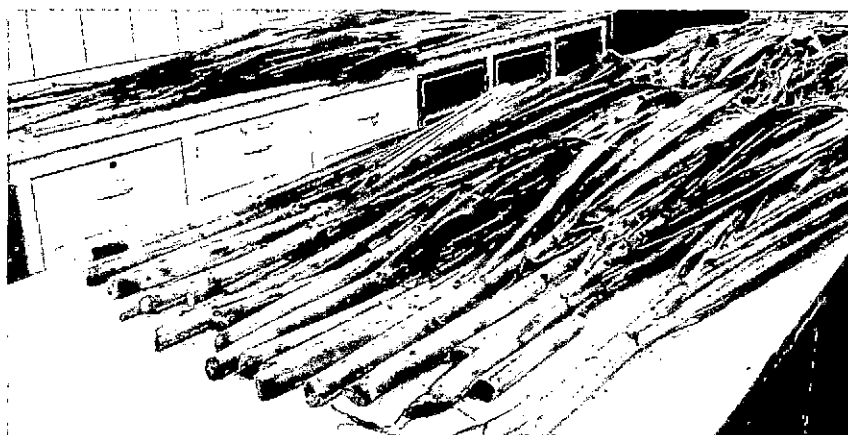


Fig. 14. Cogollo de caña de azúcar variedad PCG12-745.

3.3. Lugar y fecha de ejecución del experimento

El procedimiento de digestibilidad *in vitro* fue realizado durante el mes de febrero del año 2012 en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA), Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina; Lima, Perú.

3.4. Metodología experimental

3.4.1 Tamaño muestral

En la determinación del tamaño muestral se utilizó la prueba estadística del tamaño muestral del Diseño Central Rotable, que considera un modelo de superficie de respuesta de segundo orden. El número de tratamientos (factorial, axial, rotatable) para el diseño de composición rotatable central para diferente número de factores es el siguiente (Gutiérrez & de la Vara, 2012; Box *et al.*, 2008; Montgomery, 2008; Kuehl, 2001):

$$N = 2^k + 2(k) + 1(n).$$

En donde, N es el número de tratamientos, k es el número de factores y n, las repeticiones del punto central.

Los tres factores considerados en el experimento fueron urea, melaza y cogollo de caña de azúcar (CCA). El diseño considera el valor de n igual a 6 cuando k presenta 3 factores (Box & Hunter, 1957). Los veinte tratamientos, así como, su composición fueron asignados por el diseño, considerando el valor de α igual a 1,682 (Gutiérrez & de la Vara, 2012; Box *et al.*, 2008; Montgomery, 2008; Kuehl, 2001).

El experimento se realizó con repetición mediante dos pruebas de digestibilidad *in vitro*. Las muestras 1 al 16, y la muestra control (21) fueron introducidas en la primera prueba de digestibilidad *in vitro*; mientras que la repetición de las primeras doce muestras, junto con las muestras 17 a 20 y la repetición de la muestra control; en la segunda prueba de digestibilidad. En total, se llevaron al proceso de digestibilidad *in vitro* 34 muestras; cómo se explica en el siguiente cuadro.

Cuadro 1: Esquema del número de muestras introducido a las pruebas de digestibilidad *in vitro* del experimento.

Muestra	Digestibilidad <i>in vitro</i> (1)	Digestibilidad <i>in vitro</i> (2)	Total
1	x	x	2
2	x	x	2
3	x	x	2
4	x	x	2
5	x	x	2
6	x	x	2
7	x	x	2
8	x	x	2
9	x	x	2
10	x	x	2
11	x	x	2
12	x	x	2
13	x		1
14	x		1
15	x		1
16	x		1
17		x	1
18		x	1
19		x	1
20		x	1
*21	x	x	2
Total	17	17	34

*: Muestra de cogollo de caña de azúcar sin suplemento de urea melaza.

3.4.2 Composición de las muestras del experimento

El modelo estableció diferentes niveles de suplementación de urea y melaza, entre 1 y 3 por ciento, como se muestra en el Cuadro 2. Estas proporciones se distribuyeron en el diseño como los valores naturales o reales de las variables codificadas y fueron, igualmente, establecidas por la metodología utilizada, como se

aprecia en el Cuadro 3. Adicionalmente se incorporó al experimento una muestra de cogollo de caña de azúcar sin suplemento de urea melaza, a fin de determinar la digestibilidad *in vitro* de la materia seca del cogollo.

Cuadro 2: Componentes y codificación de las variables del diseño central rotatable de segundo orden.

Componentes		Codificación	Proporción
Variables	Urea (X ₁)	2	3,00
		1,682	2,84
		1	2,50
		0	2,00
		-1	1,50
		-1,682	1,16
	Melaza (X ₂)	-2	1,00
		2	3,00
		1,682	2,84
		1	2,50
		0	2,00
		-1	1,50
	Cogollo de Caña de Azúcar (X ₃)	-1,682	1,16
		-2	1,00
		2	94,00
		1,682	94,32
		1	95,00
		0	96,00
	-1	97,00	
	-1,682	97,68	
	-2	98,00	
Respuesta	Digestibilidad <i>in vitro</i> (Y)		

Cuadro 3: Distribución de los valores de las variables codificadas y naturales de los tratamientos del diseño central rotatable de segundo orden.

Muestra	Tratamiento	Variables Codificadas			Variables Naturales		
		Urea	Melaza	CCA	Urea	Melaza	CCA
1	1	-1	-1	-1	1,5	1,5	97
2	2	1	-1	-1	2,5	1,5	97
3	3	-1	1	-1	1,5	2,5	97
4	4	1	1	-1	2,5	2,5	97
5	5	-1	-1	1	1,5	1,5	95
6	6	1	-1	1	2,5	1,5	95
7	7	-1	1	1	1,5	2,5	95
8	8	1	1	1	2,5	2,5	95
9	9	-1,68	0	0	1,16	2	96
10	10	1,68	0	0	2,84	2	96
11	11	0	-1,68	0	2	1,16	96
12	12	0	1,68	0	2	2,84	96
13	13	0	0	-1,68	2	2	97,68
14	14	0	0	1,68	2	2	94,32
15	15,1	0	0	0	2	2	96
16	15,2	0	0	0	2	2	96
17	15,3	0	0	0	2	2	96
18	15,4	0	0	0	2	2	96
19	15,5	0	0	0	2	2	96
20	15,6	0	0	0	2	2	96

CCA = Cogollo de caña de azúcar.

Las proporciones experimentales fueron obtenidas a partir de las proporciones porcentuales de las variables naturales o reales. El Cuadro 4 muestra la composición de cada uno de los tratamientos en proporciones porcentuales y sus respectivas equivalencias en gramos, establecidas por el diseño central rotatable.

Cuadro 4: Composición de los tratamientos del diseño central rotatable de segundo orden.

Muestra	Tratamiento	Proporciones porcentuales (%)			Proporciones experimentales (g)		
		Urea	Melaza	CCA	Urea	Melaza	CCA
1	1	1,5	1,5	97	10	10	485
2	2	2,5	1,5	97	10	5	485
3	3	1,5	2,5	97	5	10	480
4	4	2,5	2,5	97	10	10	475
5	5	1,5	1,5	95	10	10	485
6	6	2,5	1,5	95	15	10	480
7	7	1,5	2,5	95	10	15	480
8	8	2,5	2,5	95	15	15	475
9	9	1,16	2	96	5	10	485
10	10	2,84	2	96	15	10	475
11	11	2	1,16	96	10	5	485
12	12	2	2,84	96	10	15	475
13	13	2	2	97,68	10	10	480
14	14	2	2	94,32	10	10	480
15	15,1	2	2	96	10	10	480
16	15,2	2	2	96	10	10	480
17	15,3	2	2	96	10	10	480
18	15,4	2	2	96	10	10	480
19	15,5	2	2	96	10	10	480
20	15,6	2	2	96	10	10	480

CCA = Cogollo de caña de azúcar.

En la preparación de cada tratamiento, se recortó las hojas de los tallos de caña de azúcar (Fig. 15) según la cantidad correspondiente y se adicionaron las proporciones experimentales de suplemento respectivas del tratamiento, de acuerdo a las mostradas en el Cuadro 4. Las mezclas obtenidas (Fig. 16), rotuladas adecuadamente en bolsas de papel aluminio, fueron secadas en la estufa a 60° C hasta que las mediciones de peso fueron estables (Fig. 17). Posteriormente, las muestras fueron molidas a través de un molino Wiley utilizando la criba respectiva para obtener un tamaño de partícula de 1 mm de diámetro (Fig. 18). Las muestras molidas fueron conservadas en frascos rotulados hasta la instalación del procedimiento de digestibilidad *in vitro*.



Fig.15. Tallos de caña de azúcar luego del recorte de cogollo.

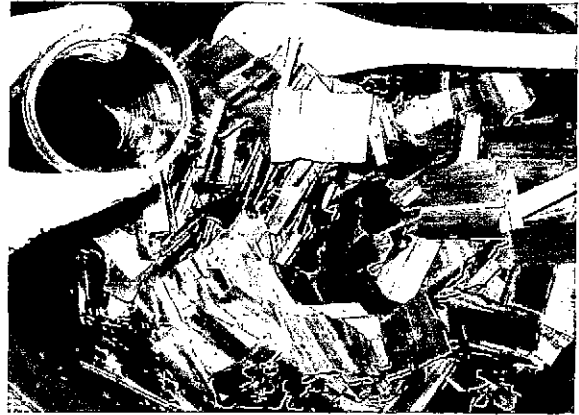


Fig.16. Aplicación de mezcla de urea melaza sobre el cogollo de caña de azúcar cortado.

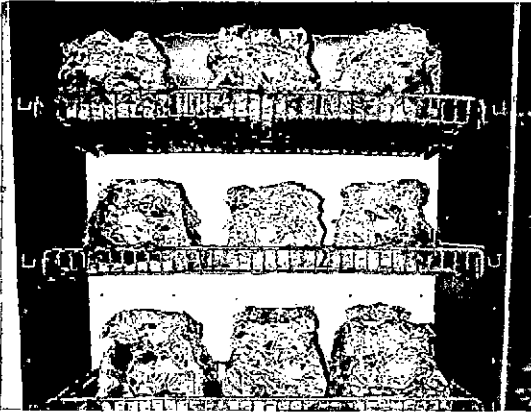


Fig.17. Muestras del experimento rotuladas durante el proceso de secado en la estufa.



Fig. 18. Muestra del experimento seca y molida a 1 mm de diámetro.

3.4.3 Determinación de la digestibilidad *in vitro*

Se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca del cogollo de caña de azúcar suplementado con urea y melaza mediante el procedimiento desarrollado por Tilley y Terry (1963), modificado por Van Soest (1970). Se calculó el coeficiente de digestibilidad *in vitro* según la siguiente fórmula (Goering, & Van Soest, 1970):

$$DIV (MS) = (P_{IMS} - P_{RS}) / P_{IMS} \times 100$$

En donde,

P_{IMS} : Peso inicial de la muestra seca.

P_{RS} : Peso de residuo seco.

DIV (MS): Digestibilidad *in vitro*, en materia seca.

La preparación de la saliva artificial de Mc Dougall y del fluido ruminal, así como, las fases de digestibilidad que comprendió el procedimiento aplicado en el presente estudio se muestran en el Anexo 3 (Goering, & Van Soest, 1970).

3.5. Análisis estadístico

Se eligió un diseño de segundo orden considerando que el punto óptimo se encuentra localizado dentro de la región experimental (Gutiérrez & de la Vara, 2012; Montgomery, 2008). En el análisis estadístico de los resultados del Diseño Central Rotable del presente estudio se utilizó el programa estadístico *SAS*.

Los coeficientes de digestibilidad *in vitro* obtenidos de los tratamientos establecidos fueron incorporados al diseño descrito. En consecuencia, el diseño permitió la obtención del Análisis de Varianza, la ecuación del modelo estadístico de segundo orden asociado al diseño, la localización del punto estacionario de la superficie de respuesta, el análisis canónico de dicha superficie y la interpretación gráfica de las interacciones entre las variables estudiadas. La superficie de respuesta se caracterizó a partir del punto estacionario en el área inmediatamente cercana a dichas coordenadas mediante el análisis canónico (Gutiérrez & de la Vara, 2012; Box *et al.*, 2008; Montgomery, 2008; Kuehl, 2001).

El análisis de varianza proporcionó información acerca de la variabilidad de las variables en estudio sometidas a los tratamientos aplicados, así como, la correspondiente al error experimental (Steel & Torrie, 1960).

Las pruebas de significancia consideradas en la interpretación del diseño establecido, fueron las siguientes (Kuehl, 2001):

Significancia del modelo completo de segundo orden.

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_{11} = \beta_{22} = \beta_{33} = \beta_{12} = \beta_{13} = \beta_{23}$$

Significancia de los componentes lineales para el modelo.

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$$

Significancia de las desviaciones cuadráticas del modelo lineal.

$$H_0: \beta_{11} = \beta_{22} = \beta_{33} = \beta_{12} = \beta_{13} = \beta_{23}$$

Significancia de la falta de ajuste al modelo cuadrático.

El modelo polinomial de segundo orden obtenido permitió obtener una aproximación a la función de respuesta real, en relación a los factores cuantitativos considerados como variables, mediante la siguiente ecuación (Kuehl, 2001):

$$Y = \beta_0 + \beta_1\chi_1 + \beta_2\chi_2 + \beta_3\chi_3 + \beta_{11}\chi_1^2 + \beta_{22}\chi_2^2 + \beta_{33}\chi_3^2 + \beta_{12}\chi_1\chi_2 + \beta_{13}\chi_1\chi_3 + \beta_{23}\chi_2\chi_3 + \epsilon$$

43586

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El valor de materia seca del cogollo de caña de azúcar variedad PCG12-745 evaluado en el presente estudio; 43,94 por ciento; es superior al reportado anteriormente para el cogollo de caña de azúcar de la región Lambayeque, aproximadamente 28 por ciento (Chiclayo, 1988; Calderón, 1983). Igualmente, el valor de proteína determinado; 7,02 por ciento; es superior al reportado para diferentes variedades de caña de la región Lambayeque en estudios previos, 5 por ciento, aproximadamente (Chiclayo, 1988; Calderón, 1983). Sin embargo, el valor de FDA determinado; 48,23 por ciento; es inferior al reportado previamente; 50,07 por ciento (Calderón, 1983). Estas diferencias pueden estar relacionadas, principalmente, a las características climáticas de la época en que se colectaron las muestras, al estado de madurez planta y a las características de cultivo (Minson, 1990; Moore, 1981).

Es importante señalar que el cogollo evaluado en el presente estudio procedió de una estación de investigación de caña de azúcar en donde las condiciones de cultivo se registraban y regulaban continuamente a fin de obtener cultivos de caña de mejor potencial (Ruesta, 2011). En este sentido, el valor de proteína determinado puede estar relacionado a la fertilización con urea de los cultivos de caña de azúcar de la estación experimental (Minson, 1990; Church, 1984). Así mismo, en relación al valor de FDA determinado para el cogollo de caña de azúcar en el presente estudio, las muestras evaluadas incluían fracciones de toda la estructura de esta región de la planta, incluso las fracciones más cercanas al tallo, las cuales presentan menor contenido proteico y mayor contenido del complejo celulosa hemicelulosa, altamente lignificado (Minson, 1990; Church, 1984).

Mediante la Metodología de Superficie de Respuesta se obtuvo el Análisis de Varianza para el modelo de segundo orden, una ecuación cuadrática y la interpretación gráfica de la ecuación que permitieron establecer relaciones entre los coeficientes de digestibilidad *in vitro* del cogollo fresco de caña de azúcar y las proporciones de suplementación de urea y melaza. Los coeficientes de digestibilidad *in vitro* obtenidos del experimento fueron incorporados como variable respuesta Y al Diseño Central

Rotable establecido, como se muestra en el siguiente Cuadro 5, obteniéndose el Análisis de Varianza que se presenta a continuación en el Cuadro 7. El resultado del análisis estadístico ofrecido por el programa estadístico SAS se muestra en el Anexo 4. El coeficiente de digestibilidad *in vitro* de la materia seca del cogollo sin suplemento fue 41,79 por ciento, en promedio; en comparación con el promedio determinado para los tratamientos; 43,05 aproximadamente, como se muestra en el Cuadro 6.

Cuadro 5: Coeficientes de digestibilidad *in vitro* (Y) obtenidos de los tratamientos del experimento.

Muestra	Tratamiento	X ₁ = Urea (%)	X ₂ = Melaza (%)	X ₃ = CCA (%)	Y= Dig. <i>in vitro</i> (%)
1	1	1,50	1,50	97,00	43,29
2	2	2,50	1,50	97,00	44,58
3	3	1,50	2,50	97,00	43,52
4	4	2,50	2,50	97,00	42,40
5	5	1,50	1,50	95,00	45,76
6	6	2,50	1,50	95,00	43,95
7	7	1,50	2,50	95,00	40,83
8	8	2,50	2,50	95,00	43,50
9	9	1,16	2,00	96,00	42,83
10	10	2,84	2,00	96,00	44,14
11	11	2,00	1,16	96,00	42,23
12	12	2,00	2,84	96,00	41,93
13	13	2,00	2,00	97,68	39,60
14	14	2,00	2,00	94,32	48,00
15	15,1	2,00	2,00	96,00	43,36
16	15,2	2,00	2,00	96,00	40,29
17	15,3	2,00	2,00	96,00	42,83
18	15,4	2,00	2,00	96,00	44,50
19	15,5	2,00	2,00	96,00	42,40
20	15,6	2,00	2,00	96,00	41,04

CCA = Cogollo de caña de azúcar.

Cuadro 6: Estadística de regresión del diseño central rotatable de segundo orden.

ESTADÍSTICA DE REGRESIÓN	
Respuesta Promedio	43,049500
Error Estándar	2,019292
Suma de Cuadrados	0,4199
Coefficiente de Variación	4,6906

Cuadro 7: Análisis de varianza del diseño central rotatable de segundo orden.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fo	
Lineal	3	20,4011	6,800	1,67	N. S.
Cuadrática	3	7,0457	2,349	0,58	N. S.
Productos Cruzados	3	2,0659	0,689	0,17	N. S.
Falta de Ajuste	5	28,9771	5,795	2,46	N. S.
Error Puro	5	11,7983	2,360		
Regresión	9	29,513	3,279	0,80	N. S.
Error	10	40,775	4,078		
TOTAL	19	70,288			

Cuadro 8: Coeficientes de las interacciones entre las variables consideradas en el diseño central rotatable de segundo orden.

COEFICIENTES					
Nombre de Coeficiente	Variable de Coeficiente	Coeficiente	Error Estándar	t Estat.	
β_0	Intercepto	42,393866	0,823506	51,48	** (P<0.01)
β_1	X_1	0,399271	0,546658	0,43	N. S.
β_2	X_2	-0,964715	0,546658	-1,05	N. S.
β_3	X_3	1,769137	0,546658	1,93	N. S.
β_{11}	X_1^2	1,265444	0,532770	0,84	N. S.
β_{22}	X_2^2	-0,136556	0,532770	-0,09	N. S.
β_{33}	X_3^2	1,583444	0,532770	1,05	N. S.
β_{12}	$X_1 * X_2$	0,729238	0,713928	0,36	N. S.
β_{13}	$X_1 * X_3$	0,248724	0,713928	0,12	N. S.
β_{23}	$X_2 * X_3$	-1,209751	0,713928	-0,60	N. S.

La observación del resultado del análisis de varianza del Cuadro 7 permitió aceptar las pruebas de significancia sobre el modelo de segundo orden, considerando una confiabilidad de 90 por ciento (Kuehl, 2001; Steel & Torrie, 1960).

En el análisis de los resultados del experimento, mostrados en el Cuadro 7, se evidencia que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos del estudio, sin embargo, en el Cuadro 5, se observa que los coeficientes de digestibilidad *in vitro* de las repeticiones del modelo, tratamientos 15,1 al 15,6; presentan variabilidad, lo cual está relacionado a factores diferentes a las proporciones establecidas en el estudio, entre éstos se puede mencionar, principalmente, a la variabilidad del fluido ruminal

(Chakeredza *et al.*, 1998; Jarrige, 1981). Así mismo, la variabilidad intrínseca del cogollo de caña de azúcar puede estar relacionada a este efecto (Minson, 1990; Moore, 1981). Estos factores pueden, igualmente, ejercer el mismo efecto sobre los demás tratamientos del experimento.

La ecuación cuadrática para el Diseño Central Rotable conseguida a partir de los resultados de digestibilidad *in vitro* obtenidos, mostrados en el Cuadro 8 es la siguiente:

$$Y = 42.394 + 0.399X_1 + -0.965X_2 + 1.769X_3 + 1.265X_1^2 + -0.137X_2^2 + 1.583X_3^2 + 0.729X_1X_2 + 0.249X_1X_3 + -1.210X_2X_3.$$

El punto estacionario expresado en coordenadas codificadas y reales localizado por el diseño central rotatable, y el valor de respuesta estimado (Y_s) para este punto se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9: Punto estacionario del diseño central rotatable de segundo orden.

PUNTO ESTACIONARIO		
VARIABLES CODIFICADAS	VARIABLES REALES	
$X_{1s} = 0.031$	$\epsilon_1 = 2,015$	$Y_s = 41,956$
$X_{2s} = -0.625$	$\epsilon_2 = 1,688$	
$X_{3s} = -1.180$	$\epsilon_3 = 97,180$	

El punto estacionario en la superficie y la estimación de la respuesta en ese punto proporcionaron una definición más específica de la superficie de respuesta (Kuehl, 2001). En este sentido, obtenido el punto estacionario se caracterizó la superficie de respuesta en el área inmediatamente cercana a dichas coordenadas mediante el análisis canónico a fin de determinar el tipo de respuesta en dicho punto y a su vez analizar la sensibilidad relativa de la respuesta a las variables involucradas (Gutiérrez & de la Vara, 2012; Box *et al.*, 2008; Montgomery, 2008; Kuehl, 2001). De esta manera, el punto estacionario se consideró centro del sistema canónico, en el cual las variables cuantitativas presentaron la siguiente desviación del diseño central “0” al diseño estacionario “S” (Box *et al.*, 2008):

$$\underline{X}_1 = X_1 - 0,031$$

$$\underline{X}_2 = X_2 + 0,625$$

$$\underline{X}_3 = X_3 + 1,180$$

La posición de los ejes X presentó la siguiente rotación a ω en el diseño estacionario "S" (Box *et al.*, 2008):

$$\omega_1 = 0,019 \underline{X}_1 + 0,975 \underline{X}_2 - 0,223 \underline{X}_3$$

$$\omega_2 = -0,298 \underline{X}_1 + 0,219 \underline{X}_2 + 0,929 \underline{X}_3$$

$$\omega_3 = 0,954 \underline{X}_1 + 0,048 \underline{X}_2 + 0,295 \underline{X}_3$$

Estas ecuaciones que describen la rotación de los ejes permitió el análisis independiente de cada una de las variables del estudio (Box *et al.*, 2008; Kuehl, 2001). En este sentido, una dirección de ascenso a lo largo del eje ω_1 (proporción de urea) es aquella en la que por cada aumento en la proporción de urea (\underline{X}_1) en 0,02 unidades, la proporción de melaza (\underline{X}_2) debe aumentar en 0,98 unidades mientras que la proporción de CCA (\underline{X}_3) debe disminuir en 0,22 unidades. Una dirección de ascenso a lo largo del eje ω_2 (proporción de melaza) se describe como aquella en la que por cada disminución en la proporción de urea en 0,3 unidades, la proporción de melaza debe aumentar en 0,22 unidades, mientras que la proporción de CCA requeriría un aumento de 0,93 unidades. La dirección de ascenso en el eje ω_3 (proporción de CCA) se define como aquella en donde cada aumento en la proporción de urea en 0,95 unidades, la proporción de melaza debe aumentar en 0,05 unidades y la proporción de CCA en 0,3 unidades.

La ecuación canónica deducida para el modelo utilizado fue la siguiente (Gutiérrez & de la Vara, 2012; Box *et al.*, 2008; Montgomery, 2008; Kuehl, 2001):

$$\bar{Y} = 41,956 + 1,775 \omega_1^2 + 1,353 \omega_2^2 - 0,416 \omega_3^2$$

La ecuación canónica obtenida permitió describir a la superficie de respuesta, relacionada al punto estacionario, como un punto silla, silla de montar o minimax. Así, la digestibilidad del CCA aumenta en situaciones en que las proporciones de urea y melaza aumentan en 1,78 y 1,35 unidades, respectivamente; junto con una disminución de la proporción de CCA en 0,42 unidades; aproximadamente. Es decir, la digestibilidad del CCA aumenta al incrementarse los niveles de urea y melaza.

En el análisis gráfico de la variación de la digestibilidad del CCA dependiente de los diferentes niveles de suplementación de urea melaza se mantuvo un factor del estudio constante a fin de graficar una superficie sólida en tres dimensiones (Gutiérrez & de la Vara, 2012; Kuehl, 2001). Considerando como variable constante o fija la variable del

punto estacionario correspondiente al cogollo de caña de azúcar (X_{3s}), se obtuvo la siguiente gráfica de superficie de respuesta y los respectivos coeficientes de digestibilidad *in vitro* aproximados mostrados en el Cuadro 10. La gráfica obtenida es una superficie con mínimo tipo silla de montar o minimax (Gutiérrez & de la Vara, 2012; Montgomery, 2008).

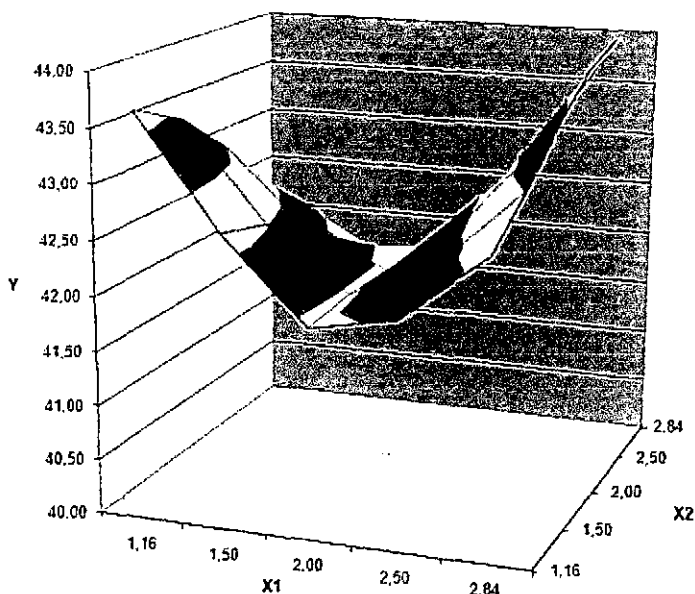


Figura 19. Superficie de respuesta considerando X_3 (Cogollo de caña de azúcar) del punto estacionario como variable fija.

Cuadro 10: Coeficientes de digestibilidad considerando X_3 (Cogollo de caña de azúcar) del punto estacionario como variable fija. $X_{3s} = -1,18$, equivalente a $\epsilon_3 = 97,180$.

VARIABLES CODIFICADAS	Y = DIV (%)	X ₁ = Urea (%)				
		-1,682	-1	0	1	1,682
X ₂ = Melaza (%)	-1,682	43,686	42,660	41,911	42,058	42,673
	-1	43,431	42,526	41,953	42,276	43,011
	0	42,976	42,247	41,933	42,514	43,426
	1	42,425	41,872	41,816	42,656	43,744
	1,682	41,994	41,561	41,681	42,697	43,905
VARIABLES REALES	Y = DIV (%)	X ₁ = Urea (%)				
		1,159	1,5	2	2,5	2,841
X ₂ = Melaza (%)	1,159	43,686	42,660	41,911	42,058	42,673
	1,5	43,431	42,526	41,953	42,276	43,011
	2	42,976	42,247	41,933	42,514	43,426
	2,5	42,425	41,872	41,816	42,656	43,744
	2,841	41,994	41,561	41,681	42,697	43,905

En situaciones en que la proporción de cogollo de caña de azúcar se mantiene constante en su valor del punto estacionario, equivalente a 97 por ciento, aproximadamente, se observa que el coeficiente de digestibilidad *in vitro* del cogollo es alto en el mínimo valor de suplementación del experimento, luego decrece y aumenta progresivamente a partir de una proporción de 2,5 por ciento de urea y con el aumento simultáneo de la proporción de melaza hasta alcanzar el máximo valor con los niveles más altos de suplementación; como se aprecia en la Fig. 19 y en el Cuadro 10.

La ecuación cuadrática, así como, las gráficas a partir de la ecuación permiten establecer aproximaciones empíricas entre la digestibilidad del cogollo de caña de azúcar y los factores cuantitativos del diseño; proporción de urea, de melaza y de cogollo de caña (Box *et al*, 2008; Kuehl, 2001). Esta aproximación está referida a las interacciones matemáticas entre los factores considerados y adicionalmente las condiciones climáticas establecidas por el proceso de digestibilidad *in vitro* representan aproximaciones biológicas al proceso de digestibilidad *in vivo*.

En relación al procedimiento de digestibilidad *in vitro*, entre los factores más relacionados al poco efecto de la suplementación urea melaza sobre la digestibilidad de la materia seca del cogollo se puede mencionar, principalmente, al régimen alimenticio o tipo de dieta ofrecida normalmente al ovino donador del fluido ruminal, la cual se encontraba compuesta por concentrado y forraje. En situaciones en que se suministra un alimento altamente fibroso, la flora ruminal debe ser óptima, cualitativa y cuantitativamente, para fermentar adecuadamente el alimento, es decir, la flora celulolítica debe encontrarse bien desarrollada. En este sentido, es poco recomendable suministrar una dieta altamente fibrosa a un animal que consume concentrado diariamente, debido a que la microflora ruminal de este animal, y en consecuencia, las condiciones de pH ruminal y las características del fluido ruminal, son mayormente amilolíticas (Mc Donald *et al*, 2006; Chakeredza *et al*, 1998; Kauffman & Saelzer, 1991; Leng, 1990; Engelhardt *et al*, 1985; Jarrige, 1981).

De igual manera, en situaciones en que se suministra suplementos de urea, es necesario un periodo de acostumbamiento a fin de favorecer la proliferación de microorganismos capacitados en la incorporación de amoníaco en su metabolismo, de

tal manera, que el suministro de suplemento de NNP se mantenga a niveles que sean utilizados eficientemente en los procesos fermentativos y sin riesgos de toxicidad (Buck *et al.*, 1981). En este sentido, en situaciones de cambio repentino de ración es posible generar alteraciones importantes en las proporciones de microorganismos ruminales, por lo tanto, el cambio de régimen alimenticio, y en consecuencia, de microflora ruminal, debe efectuarse mediante periodos prolongados de adaptación y en periodos más extensos cuanto más diferente sea el régimen alimenticio a fin de establecer adecuadamente la microflora predominante y de normalizar la capacidad enzimática del fluido ruminal (Jarrige, 1981; Hafez, 1973). En este contexto, un factor adicional relacionado al poco efecto de los tratamientos está relacionado a la especificidad; la especie ovina es menos eficiente en la degradación de alimentos altamente fibrosos, en comparación con la especie bovina (Bondi, 1989; Church, 1984).

Adicionalmente, el nivel de urea empleado como suplemento en relación con el nivel de energía en el presente estudio puede representar un factor limitante adicional, debido a que la síntesis de proteína, y en consecuencia, el crecimiento microbiano, se encuentra asociado al aporte energético, el cual se obtiene de la fermentación de las fuentes de carbohidratos de la dieta. Por lo tanto, para obtener una fermentación eficiente, se requiere que los aportes nitrogenados y energéticos de la dieta se encuentren en equilibrio (Mc Donald *et al.*, 2006; Bartley & Deyoe, 1988; Buttery, 1988). En el presente estudio las proporciones utilizadas se establecieron a fin de evaluar el efecto *in vitro* de diferentes niveles de urea en proporciones similares al suministro de energía. En situaciones *in vivo*, en el suministro de dietas suplementadas con urea es necesario complementar con una fuente energética de fácil disponibilidad en una proporción óptima establecida, en el caso de melaza se considera una mezcla de tres partes de urea en cien partes de melaza, para evitar el riesgo de intoxicación (INIFAP, 1999; INTA, 1994; Elías, 1986).

Así mismo, en dietas mezcladas, el porcentaje recomendado de urea debe ser uno por ciento o máximo el 1,5 por ciento del total de la ración, máximo el 1 por ciento del nitrógeno no proteico y menos de un tercio del total de nitrógeno de la ración (Feuchter, 2007; Buck *et al.*, 1981; O'Donovan, 1975). En este sentido, las suplementaciones con urea deben suministrarse en proporciones adecuadas en relación a la capacidad de asimilación de los microorganismos ruminales, lo que se logra

suministrándola a animales adecuadamente acostumbrados, a bajos niveles y en dietas completamente mezcladas proporcionadas *ad libitum* a lo largo del día (Maynard *et al*, 2009; Blood *et al*, 2002). Sin embargo, niveles de urea recomendados pueden disminuir las tasas de producción sin presentar signos clínicos de intoxicación, por lo tanto, es recomendable que el suplemento de urea esté limitado al nivel mínimo necesario para asegurar un buen aprovechamiento del alimento disponible (Preston & Leng, 1990).

El coeficiente de digestibilidad *in vitro* de la materia seca del cogollo de caña de azúcar determinado en el presente estudio; 41,79 por ciento, permite que se clasifique este forraje dentro de los residuos de cosecha de bajo contenido celular, moderado coeficiente de digestibilidad *in vitro*, condiciones posibles de ser medianamente mejoradas luego de tratamientos químicos (Devendra & Leng, 2011). Al respecto, la estructura fibrosa característica del cogollo podría mejorarse mediante el tratamiento previo con fuentes de amonio con preparación de ensilajes. Sin embargo, la aplicación de estos procedimientos es poco recomendable debido a que debe seleccionarse la fuente de amonio y controlarse adecuadamente, principalmente en relación a las temperaturas del proceso y proporciones de amonio, a fin de evitar intoxicaciones de los animales y del personal a cargo de la preparación (Preston & Leng, 1990).

Es importante mencionar que los procedimientos *in vitro* evalúan y ofrecen información importante de la digestibilidad del ingrediente en estudio en forma individual, rápida y descriptiva de su calidad nutritiva (Givens & Wood, 1998; Van Soest & Robertson, 1979). Los estudios de digestibilidad *in vitro* deben complementarse con evaluaciones *in vivo*, debido a que estas últimas evidencian variables de rendimiento animal que están relacionadas a condiciones fisiológicas propias de la especie y del individuo (Givens & Wood, 1998). Así mismo, las evaluaciones *in vivo* deben realizarse ofreciendo dietas integrales en donde los nutrientes se encuentren equilibrados adecuadamente en relación al propósito de producción, edad y condición fisiológica del animal. En general, en condiciones *in vivo*, es recomendable suministrar los residuos de cosecha suplementados con minerales y otras fuentes adicionales de nitrógeno como pastos frescos de alta calidad, principalmente las que adicionalmente representan fuentes de proteína sobrepasante, como las leguminosas (Romney *et al*, 2001; Leng, 1990; Preston & Leng, 1990; Jotee, 1986; Preston, 1983).

V. CONCLUSIONES

1. La muestra de cogollo de caña de azúcar evaluada en el presente estudio presentó, en promedio; 43,94 por ciento de materia seca; 7,02 por ciento de proteína y 48,23 por ciento de fibra detergente ácida.
2. El cogollo de caña de azúcar evaluado en el presente estudio presentó, en promedio; 41,79 por ciento de coeficiente de digestibilidad *in vitro* de la materia seca.
3. El cogollo de caña de azúcar evaluado en el presente estudio presentó, en promedio; 43,05 por ciento de coeficiente de digestibilidad *in vitro* de la materia seca, para las proporciones de suplementación consideradas.
4. Las proporciones de suplementación de urea y melaza del cogollo de caña de azúcar del presente estudio no presentaron diferencias estadísticas significativas.
5. El punto estacionario obtenido a partir del diseño central rotatable de segundo orden del presente estudio fue aquel equivalente a 97,18 por ciento de cogollo de caña de azúcar suplementado con 2,015 por ciento de urea y 1,688 por ciento de melaza. La respuesta (Y_s) para el punto estacionario determinado fue 41,956.
6. La superficie de respuesta obtenida a partir de las proporciones de suplementación de urea y melaza del cogollo de caña de azúcar del presente estudio fue de tipo minimax.
7. La ecuación canónica obtenida del diseño central rotatable de segundo orden del presente estudio fue $\bar{Y} = 41,956 + 1,775 \omega_1^2 + 1,353\omega_2^2 - 0,416 \omega_3^2$.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de digestibilidad *in vitro* del cogollo de caña de azúcar, en general, de residuos de cosecha, utilizando fluido ruminal de animales con un periodo de acostumbramiento mínimo de una semana a dietas altamente fibrosas.
2. Realizar estudios similares de digestibilidad *in vitro* del cogollo de caña de azúcar suplementado con urea melaza incrementando las proporciones de melaza.
3. Realizar estudios de digestibilidad *in vitro* del cogollo de caña de azúcar suplementado con forrajes frescos, principalmente, leguminosas.
4. Realizar estudios de determinación *in vitro* de ácidos grasos volátiles, metano y dióxido de carbono del cogollo de caña de azúcar de los diferentes planes de suplementación.
5. Realizar estudios de digestibilidad *in vitro* de las diferentes variedades de caña de azúcar abundantes en el Perú.
6. Realizar estudios de preparación de ensilajes y bloques multinutricionales de cogollo de caña de azúcar, así como, de estudios de digestibilidad de estas preparaciones.
7. Realizar estudios de digestibilidad *in vivo* posteriores a los estudios *in vitro* a fin de evaluar el rendimiento animal.
8. En el suministro de dietas suplementadas con urea, utilizar los mínimos niveles de urea y mayores niveles de melaza.

VII. BIBLIOGRAFÍA

BARTLEY, E.; DEYOE, C. 1988. Utilización de Fuentes Alternativas de Nitrógeno No Proteico para Disminuir la Velocidad de Liberación del Amoniaco en el Rumén. *In* Haresign, W; Cole D. eds. Avances en Nutrición de los Rumiantes. España. Acribia, pp. 107-122.

BATEMAN, J. 1970. Nutrición Animal. Manual de Métodos Analíticos. Centro Regional de Ayuda Técnica. México. Agencia para el Desarrollo Internacional (A.I.D.) Cap. 5.

BLOOD, D.; RADOSTITS, O.; GAY, C.; HINGHLIFF, K. 2002. Medicina Veterinaria. España. 9ª ed. McGraw-Hill Interamericana. pp. 423-425, 1928-1931.

BONDI, A. 1989. Nutrición Animal. España. Acribia S.A. Cap. 5, 8 y 13.

BOX, G.; HUNTER, J. 1957. Multifactor Experimental Designs for Exploring Response Surfaces. *Annals of Mathematical Statistics*. Vol.28: 195-242. Consultado 15 jun. 2013. Disponible en:
http://projecteuclid.org/DPubS/Repository/1.0/Disseminate?view=body&id=pdf_1&handle=euclid.aoms/1177707047

BOX, G.; HUNTER, J.; HUNTER, W. 2008. Estadística para Investigadores. Diseño, Innovación y Descubrimiento. 2ª ed. España. Reverté. Cap. 11.

BUCK, W.; OSWEILER, G.; VAN GELDER, G. 1981. Toxicología Veterinaria Clínica y Diagnóstica. España. Acribia, pp. 90-97.

BUTTERY, P. 1988. Aspectos de la Bioquímica de la Fermentación Ruminal y su Implicación en la Productividad de los Rumiantes. *In* Haresign, W; Cole D. eds. Avances en Nutrición de los Rumiantes. España. Acribia, pp. 153-167.

CALDERÓN, S. 1983. Digestibilidad y Consumo Voluntario de Rastrojo en Ganado Caprino. Tesis Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque, Perú. pp. 27-55.

CHAKEREDZA, S.; MEULEN, U.; VEARASILP, T. 1998. A Review of Some Alternative Techniques to the Determination of Nutrient Digestibility for Ruminant Animals. *Journal of Agricultural* 14 (3): 300-310. Consultado 9 dic. 2012. Disponible en:
http://web.agri.cmu.ac.th/agjournal/pdf/J00057_C00325.pdf

CHICLAYO, V. 1988. Evaluación del Potencial Forrajero de la Caña de Azúcar de la Cooperativa Agraria Tumán Ltda. N° 14. Tesis Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque, Perú. pp. 19-35.

CHURCH, D. 1984. Alimentos y Alimentación del Ganado. Tomo I y II. Uruguay. Edit. Agropecuaria Hemisferio Sur S. R. L. Cap. 7, 8, 9 y 15.

CHURCH, D.; POND, W. 1990. Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales. LIMUSA. México. Cap. 4, 5.

CHURCH, D.; POND, W.; POND, K. 2003. Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales. Segunda Edición. LIMUSA-WILEY. México. pp. 61-63.

DEVENDRA, C. 1987. Strategies for the Effective Utilization of Small Ruminants and Feed Resources in the Highlands of Asia. Paper presented at the ICIMOD Expert Panel Meeting on Himalayan Fodders and Pastures, 25-29 May 1987, Kathmandu, Nepal. Consultado 9 jul. 2011. Disponible en: <http://idl-bnc.idrc.ca/dspace/bitstream/10625/8141/1/75810.pdf>

DEVENDRA, C.; LENG, R. 2011. Feed Resources for Animals in Asia: Issues, Strategies for Use, Intensification and Integration for Increased Productivity. Asian-Australasian Journal Animal Sciences. Vol. 24 (3): 303-321. March, 2011. Consultado 24 jun. 2013. Disponible en: <http://www.ajas.info/pdf/24-36.pdf>

DONEFER, E.; LATRILLE, L. 1979. Description of Sugarcane Feeds: Nomenclature and Nutritional Information. In: Pigden, W.; Balch, C.; Graham, M. eds. Standardization of analytical Methodology for Feeds. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada. 12-14 March 1979. International Development Research Centre and the International Union of Nutritional Sciences. Canada. pp. 79-86. Consultado 15 dic. 2011. Disponible en: http://idl-bnc.idrc.ca/dspace/bitstream/10625/17691/1/38093_p36-37.pdf

ELÍAS, A. 1986. Commercial Application of Molasses Feeding to Ruminants in Cuba. In: Sugarcane As Feed. Proceedings; FAO Animal Production and Health Paper (FAO). Nº. 72. Expert Consultation on Sugarcane as Feed, Santo Domingo (Dominican R.), 7-11 Jul 1986. Sansoucy, R. (ed.) Aarts, G. (ed.) Preston, T.R. (ed.). FAO. Rome, Italy. p. 235-244. Consultado 20 jun. 2010. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/s8850e/S8850E21.htm#ch22>

ENGELHARDT, W.; DELLOW, D.; HOELLER, H. 1985. The Potential of Ruminants for the Utilization of Fibrous Low Quality Diets. Symposium on Food from Unconventional Sources. Proceedings of the Nutrition Society Vol. 44: 37-43. Consultado 9 dic. 2012. Disponible en: http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FPNS%2FPNS44_01%2FS002966518500012Xa.pdf&code=c069d26b31da15be5eecd461067b11c3

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 1988. La Caña de Azúcar. Consultado 4 jul. 2010. Disponible en: www.fao.org/ag/AGa/AGAP/FRG/.../Cazuc.html

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2007. Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en la Producción de Caña y Panela. Cosecha, Poscosecha y Producción de Panela. Manual Técnico. Consultado 9 jul. 2011. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1525s/a1525s04.pdf>

FEUCHTER, F. 2007. El Uso Correcto de la Urea en la Alimentación del Ganado. Universidad Autónoma de Chapingo. México. Consultado 22 ene. 2012. Disponible en: <http://www.infoganaderocentroamericano.com/files/UREA.pdf>

FULLER, M. 2004. The Encyclopedia of Farm Animal Nutrition. CABI Publishing. United Kingdom. p36.

GIVENS, D.; WOOD, C. 2002. Optimising the Use of Poor Quality Forage by Ruminants. Department for International Development. United Kingdom. Consultado 28 ene. 2012. Disponible en: <http://r4d.dfid.gov.uk/PDF/Outputs/R6340d.pdf>

GOERING, H.; VAN SOEST, P. 1970. Forage Fiber Analyses. Apparatus, Reagents, Procedures, and some Applications. Agricultural Handbook. N°379. Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture. United States of America.

GRENET, E. 1997. Aspects Microscopiques de la Dégradation Microbienne des Tissus Végétaux dans le Rumen. INRA, Station de Recherches sur la Nutrition des Herbivores. INRA Prod: Anim. 10(3): 241-249. Consultado 28 ene. 2012. Disponible en: <https://www6.inra.fr/productions-animales/1997-Volume-10/Numero-3-1997/Aspects-microscopiques-de-la-degradation-microbienne-des-tissus-vegetaux-dans-le-rumen>

GUTIÉRREZ, H.; DE LA VARA, R. 2012. Análisis y Diseño de Experimentos. 3ªed. México. Mc Graw-Hill. Cap. 12.

HAFEZ, E. 1973. Adaptación de los Animales Domésticos. España. Labor S.A. Cap. 16.

INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). 1999. 500 Tecnologías Llave en Mano. División Pecuaria. México.

INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). 1994. Preparación y Utilización de la Mezcla de Melaza Urea. Argentina. Consultado 22 ene. 2012. Disponible en: www.funica.org.ni/docs/product_ani_14.pdf

JACKSON, M. 1978. Métodos de Tratamiento de la Paja para la Alimentación Animal. Estudio FAO: Producción y Sanidad Animal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma, Italia. Cap. 2 y 3.

JARRIGE, R. 1981. Alimentación de los Rumiantes. Institut National de la Recherche Agronomique. Versailles, France. España. Mundi-Prensa. Cap. 1 y 3.

JOHNSON, W. 1972. La Evaluación Nutritiva de los Forrajes. Universidad de Carolina del Norte y Universidad Agraria La Molina. 2da. Reunión de Especialistas e Investigadores Forrajeros del Perú. Arequipa, Perú.

JOTEE, D. 1986. The Utilization of Sugarcane Tops in Combination with *Leucaena leucocephala* as a Feed for Goats. Toward Optimal Feeding of Agricultural Byproducts to Livestock in Africa. FAO Corporate Document Repository. Consultado 22 ene. 2013. Disponible en: <http://www.fao.org/wairdocs/ilri/x5487e/x5487e0h.htm>

KAUFMANN, W.; SAELZER, V. 1991. Fisiología Digestiva Aplicada del Ganado Vacuno. España. Acribia. Cap. 2, 3, 4, 5, y 7.

KUEHL, R. 2001. Diseño de Experimentos. Principios Estadísticos para el Diseño y Análisis de Investigaciones. 2ª ed. México. Thomson Editores. Cap. 13.

LENG, R. 1990. Factors Affecting the Utilization of Poor Quality Forages by Ruminants Particularly under Tropical Conditions. Nutrition Research Reviews (1990) 3: 277-303. Consultado 28 ene. 2011. Disponible en: http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FNRR%2FNRR3_01%2FS0954422490000178a.pdf&code=15d17a747642faecbe3d4e84592ebdd3

MAYNARD, L; LOOSLI, J.; HINTZ, H.; RICHARD, W. 1979. Nutrición Animal. México. Mc Graw-Hill. 7ª ed. Cap. 6 y 8.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R.; GREENHALPH, J.; MORGAN, C. 2006. Nutrición Animal. 6ª ed. España. Acribia, cap. 4 y 8.

MINAG (Ministerio de Agricultura). 2013. Caña de Azúcar. Principales Aspectos de la Cadena Agropecuaria. Consultado 25 sep. 2012. Disponible en: http://agroaldia.minag.gob.pe/biblioteca/download/pdf/agroeconomia/agroeconomia_ca_naazucar.pdf

MINAM (Ministerio del Ambiente). 2009. Plan de Acción para la Mejora de la Calidad del Aire en la Cuenca Atmosférica de la Ciudad de Trujillo.

MINSON, D. 1990. Forage in Ruminant Nutrition. United States of America. Academic Press. Cap. 1, 2, 3, 4, 5.

MONTGOMERY, D. 2008. Diseño y Análisis de Experimentos. 2ª ed. México. Limisa-Wiley. Cap. 11.

MOORE, J. 1978. Forage Crops. United States of America. American Society of Agronomy and Crop Sciences of America.

MOORE, J. 1981. Principles of Forage Quality Evaluation. Department of Animal Science. University of Florida. EEUU.

MUI, T.; PRESTON, T.; BINH, V. 1997. Sugarcane Tops as a Feed for Goats. Effect of Harvest Season. Livestock Research for Rural Development. Vol. 9 (1). Consultado 10 dic. 2010. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd9/1/mui91.htm>

NASEEVEN, M. 1986. Sugarcane Top as Animal Feed. In: Sugarcane as Feed. Proceedings; FAO Animal Production and Health Paper (FAO). N° 72. Expert Consultation on Sugarcane as Feed, Santo Domingo (Dominican R.), 7-11 Jul 1986. Sansoucy, R. (ed.) Aarts, G. (ed.) Preston, T.R. (ed.). FAO. Rome, Italy. pp. 106-122. Consultado 9 dic. 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/s8850e/S8850E10.htm>

O'DONOVAN, P. 1975. Potential for By-Product Feeding in Tropical Areas. Ruminant Nutrition: Selected articles from the World Animal Review. FAO Corporate Document Repository. Consultado 9 dic. 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/004/x6512e/x6512e11.htm>

ORSKOV, E. 1988. Nutrición Proteica de los Rumiantes. España. Acribia. Cap. 2 y 3.

PIGDEN, W. 1974. Derinded Sugarcane as an Animal Feed. A Major Breakthrough. Ruminant Nutrition: Selected articles from the World Animal Review. FAO Corporate Document Repository. Consultado 22 ene. 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/004/x6512e/X6512E03.htm>

PIGDEN, W.; BENDER, F. 1978. Utilization of Lignocellulose by Ruminants. Ruminant Nutrition: Selected articles from the World Animal Review. FAO Corporate Document Repository. Consultado 22 ene. 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/004/x6512e/X6512E06.htm>

PRESTON, T.; 1983. Orientation of Research in Livestock Nutrition and Feeding for the Developing Countries of Asia. In: Least Cost Ration Formulation. Proceedings of FAO-PARC Workshop. 12-24 March, 1983. Islambad, Pakistan. Consultado 9 jul. 2011. Disponible en: <http://www.cabi.org/gara/FullTextPDF/2009/20093343385.pdf>

PRESTON, T.; LENG, R. 1990. Adecuando los Sistemas de Producción Pecuaria a los Recursos Disponibles: Aspectos Básicos y Aplicados del Nuevo Enfoque sobre la Nutrición de Rumiantes en el Trópico. Colombia. Círculo Impresores. Cap. 2, 3, 4, 5, 7, 8 y 11.

QUESADA, J. 1995. Utilización de Residuo de Caña Tratado con Hidróxido de Sodio Enriquecido con Melaza y Urea en la Alimentación de Vacunos para Carne. Tesis Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú. pp. 46-62.

RODRIGUEZ, J. 1976. Correlaciones entre la Composición Química y la Digestibilidad *In Vitro* del Ensilaje de Cogollo de Caña de Azúcar. Tesis Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

ROMNEY, D.; MURRAY, A.; WOOD, C.; ROBERTS, B.; GONCALVES DE ASSIS, A. 2001. Rapid Evaluation of Poor Quality Roughages and Forage Mixtures. Department for International Development. United Kingdom. Consultado 9 dic. 2012. Disponible en: <http://r4d.dfid.gov.uk/PDF/Outputs/R6299d.pdf>

RUESTA, A. 2011. Avances de Investigación en Caña de Azúcar. Programa Cultivos Agroindustriales, Caña de Azúcar. Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA). Lamabayeque, Perú.

SATTER, L.; ROFFLER, R. 1988. Influencia de la Ingestión de Nitrógeno y de Carbohidratos sobre la Fermentación Ruminal. In Haresign, W; Cole D. eds. Avances en Nutrición de los Rumiantes. España. Acribia, pp. 125-150.

SCHULTZ, T.; GARMENDIA, J.; DE SCHULTZ, E.; MOYA, A.; CHICCO, C. 1978. Niveles de Nitrógeno No Prteico para Novillos alimentados con Cogollos de Caña de Azúcar durante la Época de Sequía. Agronomía Tropical Vol. 28 (6): 655 – 666.

Consultado 10 nov. 2011. Disponible en:

http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at2806/arti/shultz.t.htm

STEEL, R.; TORRIE, J. 1960. Principles and Procedures of Statistics with Special Reference to the Biological Sciences. United States of America. McGraw-Hill Book Company, Chapter 5 and 7.

TILLEY, J.; TERRY, A. 1963. A Two-stage Technique for the *In Vitro* Digestion of Forage Crops. Journal of the British Grassland Society. Vol. 18 (2): 104-111.

TUYET, N. 2005. The Variation of Nutritive Contents in the Sugarcane Tops after Harvesting and during Ensilaging Store. Proceedings of the Workshop on the Technology Development for livestock Production Vietnam. Consultado 9 dic. 2012. Disponible en: http://publication.ctu.edu.vn/en/index.php/tapchi/doc_details/1035-the-variation-of-nutritive-contents-in-the-sugarcane-tops-after-harvesting-and-during-ensilaging-store

VAN SOEST, P.; ROBERTSON, J. 1979. Systems of Analysis for Evaluating Fibrous Feeds. In: Pigden, W.; Balch, C.; Graham, M. eds. Standardization of analytical Methodology for Feeds. Proceedings of a workshop held in Ottawa, Canada. 12-14 March 1979. International Development Research Centre and the International Union of Nutritional Sciences. Canada. pp. 49-60.

WALLI, T. 2010a. Urea Treatment of Straws. In: FAO. 2011. Successes and Failures with Animal Nutrition Practices and Technologies in Developing Countries. FAO Electronic Conference, 1-30 September 2010. Rome, Italy. pp. 11-14. Consultado 9 dic. 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/014/i2270e/i2270e00.htm>

WALLI, T. 2010b. Biological Treatment of Straws. In: FAO. 2011. Successes and failures with animal Nutrition Practices and Technologies in Developing Countries. FAO Electronic Conference, 1-30 September 2010. Rome, Italy. pp. 57-60. Consultado 9 dic. 2012. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/014/i2270e/i2270e00.htm>

ANEXOS

ANEXO 1

RESEÑA DE LA EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE LOS FORRAJES

1. Variables químicas de evaluación

Dentro las variables de evaluación relacionadas a la composición química del forraje se mencionan la proteína cruda, fibra cruda, extracto etéreo, ceniza, y el extracto libre de nitrógeno; las cuales se obtienen mediante el análisis proximal de Weende. Las variables relacionadas a la estructura física de la célula vegetal se determinan mediante el análisis de constituyentes de la pared celular de Van Soest y están referidas a las fracciones celulares de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA).

2. Métodos de evaluación de la digestibilidad

Los valores de las variables de evaluación se obtienen a partir del análisis químico de los productos obtenidos mediante procedimientos a través de los cuales es posible controlar el nivel de alimentación como la digestibilidad *in vivo* o simular los procesos digestivos que acontecen en el animal como la digestibilidad *in vitro*. La metodología de digestibilidad *in situ*, denominada técnica de la bolsa de nylon, permite obtener los coeficientes de degradabilidad, por lo tanto es altamente recomendable para el estudio de la solubilidad de los alimentos, como en el caso de los granos y concentrados (Church & Pond, 1990). A continuación se describen los métodos mayormente utilizados en la determinación de la digestibilidad de los forrajes.

2.1 Digestibilidad *in vivo*

Los experimentos de digestibilidad *in vivo* permiten determinar el nivel de ingestión de un alimento o ración determinada suministrada a los animales en estudio, así como, la digestibilidad de los nutrientes al analizar los respectivos contenidos en las heces (Bondi, 1989). La evaluación nutricional con animales es costosa, requiere tiempo y cantidad considerable de alimento (Chakeredza *et al*, 1998). Sin embargo, es la metodología que permite la evaluación adecuada de la respuesta animal (Givens & Wood, 1998; Moore, 1981).

La metodología de digestibilidad *in vivo* evalúa entre cuatro y seis animales por tratamiento mantenidos en jaulas metabólicas, a los cuales se les suministra el mismo alimento, previamente analizado, bajo iguales condiciones en relación a cantidad ofrecida *ad libitum* y frecuencia (Church & Pond, 1990). Las primeras semanas constituyen el período pre experimental o preliminar que tiene por finalidad renovar el contenido del aparato digestivo de los residuos de alimento ingerido antes de iniciar la prueba y permitir que el animal se adapte a la dieta experimental. Durante los siete o diez días siguientes, período experimental o de recolección, se realiza la colección de heces, en donde, se registra el peso de las mismas y se analiza su composición química (Church & Pond, 1990). El registro de las observaciones es de utilidad en la determinación de la tasa de consumo voluntario y junto con los resultados de los análisis químicos se obtienen los coeficientes de digestibilidad aparente de los nutrientes analizados (Chakeredza *et al*, 1998).

Entre los factores animales que se deben considerar en la implementación de estos estudios se menciona la especie, raza, edad, sexo, peso corporal, estado de salud; y entre los factores del alimento, energía y proteína cruda de la dieta ofrecida, relación forraje concentrado, y requerimientos minerales. Las condiciones ambientales también deben ser controladas (Chakeredza *et al*, 1998).

2.2 Digestibilidad *in vitro*

El sistema de digestibilidad *in vitro* está constituido por un equipo en donde el contenido ruminal es sometido a procesos de incubación bajo condiciones ambientales controlables con el objeto de predecir las obtenidas en el animal, digestibilidad *in vivo* (Fuller, 2004; Church & Pond, 1990). El método puede estar constituido por un sistema de operación cerrado o abierto, así como, por un sistema de flujo continuo, pudiendo en algunos métodos ser controlado por sensores químicos (Fuller, 2004).

El sistema permite el estudio de diversos aspectos involucrados en la digestibilidad *in vivo*, entre éstos se menciona a los productos de la fermentación ruminal, el comportamiento de la microflora ruminal, la cinética de degradación de los componentes del forraje y del alimento, la metanogénesis, entre otros. Los equipos más complejos comprenden sistemas de diálisis de los productos para simular los procesos de absorción y de intercambio gaseoso. De esta manera, es posible monitorear y

controlar la temperatura, pH y potencial redox del sistema, permitiendo también el estudio de ecosistemas microbiales (Fuller, 2004).

2.2.2 Generalidades de la metodología descrita por Tilley & Terry

En 1963, Tilley & Terry presentan una descripción de ecuación de regresión lineal simple, para otorgar información de la digestibilidad *in vivo* (Y) en relación a la digestibilidad *in vitro* (X) obtenida en su procedimiento. La relación descrita es la siguiente (Tilley & Terry, 1963):

$$Y = 0,99X - 1,01$$

En esta relación, se observó un error estándar de 2,31 (Tilley & Terry, 1963). En la evaluación estadística presentada por los autores se señala que los coeficientes *in vitro* e *in vivo* se encuentran altamente correlacionados, presentando un coeficiente de correlación de Pearson entre 0,83 y 0,91. Esta metodología presenta etapas de incubación controladas con licor ruminal y pepsina. Posteriormente, Van Soest modifica este procedimiento realizando incubaciones con una solución detergente (Goering & Van Soest, 1970).

Este procedimiento de digestibilidad *in vitro*, utilizado en forma universal, consta de dos fases. En la primera fase, permite el estudio de la fracción fibrosa digestible y la fracción soluble digestible. La segunda fase involucra la solubilización con pepsina del residuo de la primera fase. De esta manera, se simula el desdoblamiento *in vivo* de la proteína de la dieta y la producida por los microorganismos ruminales, así como, las enzimas digestivas del abomaso. Esta segunda fase es modificada por Van Soest, al reemplazar la solubilización con pepsina del residuo de la primera fase por una determinación de fibra detergente neutro. En donde, la solución detergente neutro logra disolver una mayor cantidad de materia seca en comparación con la solución pepsina ácido, debido a que disuelve la pared celular de las bacterias y otros productos endógenos. De esta manera, el procedimiento modificado ofrece el coeficiente de la digestibilidad verdadera del forraje, mientras que

el procedimiento original, el coeficiente de digestibilidad aparente (Goering & Van Soest, 1970).

La ventaja de este método es que utiliza aparatos simples, es reproducible y permite la evaluación de múltiples muestras en forma simultánea. Sin embargo, la colección de licor ruminal y la dieta suministrada a los animales fistulados son los principales factores que logran alterar los resultados, debido a que es necesaria la normalización de la capacidad proteolítica del líquido ruminal dependiendo del material a evaluarse (Chakeredza *et al*, 1998; Jarrige, 1981).

ANEXO 2

HOJA DE CARACTERÍSTICAS DE CAMPO DE LOS CULTIVOS DE CAÑA VARIEDAD PCG12-745 DEL PROYECTO CAÑA DE AZÚCAR DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL INIA VISTA FLORIDA

1. Nombre del campo: Lote 3.7 de la Estación Experimental Vista Florida.
2. Ubicación
Región: Lambayeque.
Provincia: Chiclayo.
Distrito: Picsi.
Localidad: Vista Florida.
Latitud Sur: 6°45'30".
Longitud Oeste: 79° 50' 45".
Altitud: 30 msnm.
3. Fecha de instalación: Mayo del año 2008.
4. Variedad: PCG12-745 (Azul Casa Grande).
5. Área: Una hectárea.
6. N° de cortes a la fecha: 3 (1 planta y 2 socas).
7. Edad de corte: 13,5 meses.
8. Fecha de cosecha: Febrero del año 2012.
9. Tiempo de agoste: 82 días.
10. Tipo de cosecha: Manual.
11. Fertilización: Se ha realizado la fertilización nitrogenada a razón de 240 Kg de N/ha, de acuerdo a los tratamientos en estudio, enterrada a 15 cm. de profundidad, en forma fraccionada: el 50% al mes de la cosecha y el 50% restante a los 35 días después de la primera aplicación; la fuente de nitrógeno empleada fue urea.
12. Aplicación de herbicidas: Post-emergentes: se aplicó productos Fitopax 500 + Hedonal 2-4D a dosis de 3 y 2 L/ha a los 42 días después de la cosecha de caña.
Redondeo químico: con Round Up, en dosis de 2 L/ha.
13. Control fitosanitario: En el control de *Diatraea saccharalis* se ha realizado una liberación de avispas *Trichogramma sp.* con dosis de 50 pulg²/ha. a los 45 días después de la cosecha de caña.

14. Riegos : Hasta el momento de agoste se han realizado 12 riegos con un volumen promedio de 80 L/s y con una frecuencia de 25 a 30 días entre riegos, siendo el consumo total de agua de 15,000 m³/ha en todo el ciclo del cultivo.
15. Datos meteorológicos: Clima subtropical (cálido-seco), propio del Valle Chancay, las temperaturas mínimas y máximas fluctuaron entre los promedios de 18,20 °C y 28 °C, respectivamente; las precipitaciones mínimas fueron inferiores a 0.20 mm mensuales.

La velocidad del viento fue variable en los diferentes meses, registrándose la mayor velocidad en los meses de agosto y setiembre del año 2011 con 6.50 m/s. Los valores registrados de radiación solar fueron variables, el valor más bajo registrado fue de 4.80 horas de sol y corresponde al mes de octubre del año 2011.
16. Características morfológicas: Tallos erectos y hoja larga verde azulosa, de fácil deshoje.
17. Características agronómicas: Excelente germinación, crecimiento vigoroso erecto, tardío para cerrar. Presenta de 10 a 12 tallos por cepa. Escasa floración. Resistente al carbón de la caña y susceptible a la roya.
18. Producción: 154 toneladas de caña cosechada, con un contenido de 13,68 por ciento de sacarosa.

ANEXO 3

METODOLOGÍA DE DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* APLICADA EN EL ESTUDIO

El procedimiento de digestibilidad *in vitro* del presente estudio se realizó según la metodología descrita por Tilley & Terry y modificada por Van Soest.

La preparación de la saliva artificial de Mc Dougall y del fluido ruminal, así como, las fases de digestibilidad que comprendió el procedimiento aplicado en el presente estudio se explican a continuación (Goering, & Van Soest, 1970).

El siguiente cuadro muestra el implemento necesario del procedimiento.

Cuadro 11: Equipo, materiales y reactivos del procedimiento de digestibilidad *in vitro*.

EQUIPO	MATERIALES	REACTIVOS
Potenciómetro. Equipo de Baño de María. Bomba de vacío. Equipo de digestión de fibra. Termómetro. Tanque de CO ₂ .	Matraces <i>Erlenmeyer</i> de 125 ml. Aros de acero. Matraz de 1L. Matraces <i>Kitasato</i> de 500 ml. Tapones y tubos. Mangueras. Equipo de venoclisis. Pinzas. Pipeta de 1ml. Gasa. Embudos. Fibra de vidrio Termo portátil.	Bicarbonato de sodio. Fosfato ácido de sodio dehidratado. Cloruro de potasio. Cloruro de sodio. Sulfato de magnesio anhidro. Cloruro de calcio. Sulfato de amonio. Glucosa. Agua destilada. Solución detergente neutra. Decahidronaftaleno. Acetona.

1. Preparación de la saliva artificial de Mc Dougall.

- El buffer se preparó disolviendo los siguientes reactivos en un matraz de 1 L (Fig. 20).

Bicarbonato de sodio (9,8 g.).

Fosfato ácido de sodio dehidratado (4,65 g.).

Cloruro de potasio (0,57 g.).
Cloruro de sodio (0,47 g.).
Sulfato de magnesio (0,059 g.).
Sulfato de amonio (0,17 g.).
Glucosa (0,5 g.).

- Se adicionó 1 ml de Cloruro de calcio al 4%.
- La solución fue llevada a proceso de incubación en Baño de María a 39°C (Fig.21).
- Simultáneamente, se introdujo CO₂ durante una hora.

2. Preparación del fluido ruminal

- Se alimentó a un ovino fistulado con media ración de heno de alfalfa a las 6 de la mañana.
- El fluido ruminal fue colectado en un termo conservador atemperado a una temperatura de 39° C, luego de dos horas de la alimentación del ovino, evitando la exposición al oxígeno (Fig. 22).
- Se filtró 200 ml de fluido ruminal en un matraz de 1 L, previamente calentado a 39° C, a través de una capa de fibra de vidrio envuelta en varias capas de gasa (Fig. 23).
- Se introdujo CO₂ al matraz con el filtrado por un minuto.

3. Primera fase del proceso de digestibilidad *in vitro*.

- Se preparó el inóculo, con una parte de fluido ruminal y cuatro partes de saliva artificial Mc Dougall, en un matraz de 1L (Fig. 24).
- El inóculo se llevó a incubación en Baño de María a 39°C, adicionando CO₂ durante 10 minutos.
- Se rotuló cada uno de los diecisiete matraces *Erlenmeyer* de 125 ml con un código respectivo.
- Se pesó aproximadamente 0,5 g. de muestra seca, molida a 1 mm. de diámetro, en cada uno de los matraces (Fig. 25 y Fig. 26).
- Se adicionó 2 ml de agua destilada a cada matraz.
- Los matraces se llevaron a incubación en Baño de María a 39° C (Fig. 27).
- Se adicionó 50 ml de inóculo y CO₂ a cada matraz, en un sistema cerrado.

- Se añadió CO₂ adicional por 15 segundos para desplazar el oxígeno que pudiera estar presente en los matraces.
- Transcurrida una hora de incubación, se homogenizó manualmente el contenido de los matraces en sentido rotatorio. Esta operación se realizó tres veces el primer día y cada 8 horas el segundo día (Fig. 28).
- Transcurridas 48 horas de incubación, se retiró los matraces de la cámara de incubación y se conservaron en refrigeración hasta la instalación de la segunda fase del procedimiento (Fig. 29).

4. Segunda fase del proceso de digestibilidad *in vitro*.

- Se retiró la cubierta protectora de los matraces y se lavaron con un mínimo de agua destilada a fin de recuperar las partículas de muestra adheridas a la pared del matraz.
- El contenido de los matraces fue vertido a vasos de precipitado *Kitasato* de 500 ml, adecuadamente rotulados, y se lavaron con 100 ml de solución detergente neutra hasta completar un volumen de 150 ml.
- Se añadió 2 ml de decahidronaftaleno a cada uno de los vasos *Kitasato* y se colocaron en el equipo de digestión de fibra por una hora (Fig. 30).
- Se filtró el contenido de cada vaso en un crisol de porosidad gruesa de 50 ml, adecuadamente rotulado, realizando lavados sucesivos con agua destilada caliente y dos veces con 100 ml de acetona (Fig. 31).
- Los crisoles se llevaron a proceso de desecación en estufa a 105°C por 24 horas (Fig. 32).
- Transcurrido el tiempo, se dejaron enfriar en el desecador y se pesaron (Fig. 33).



Fig.20. Reactivos y saliva artificial de McDougall.

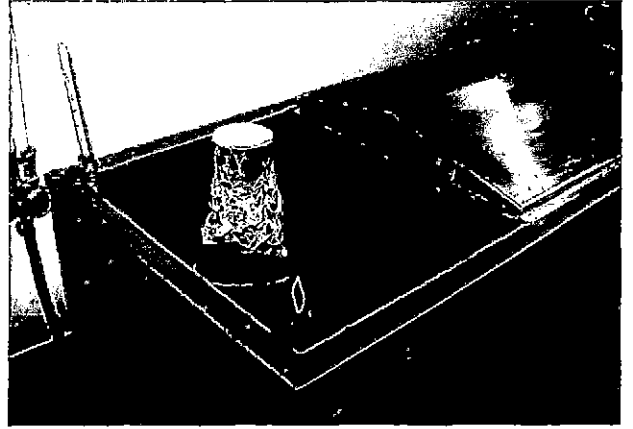


Fig.21. Saliva artificial en Baño de María a 39° C. Nótese el termómetro en la cámara.



Fig. 22. Colección del contenido ruminal del ovino donador.

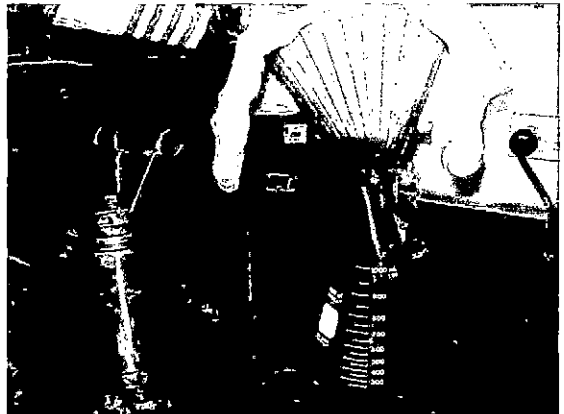


Fig. 23. Filtrado del contenido ruminal.

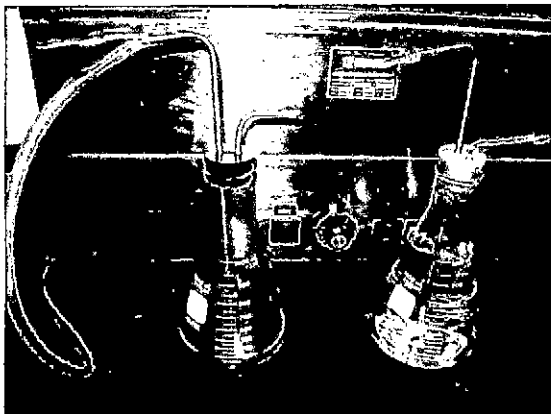


Fig. 24. Preparación del inóculo con una parte de fluido ruminal y cuatro de saliva artificial. Nótese la conexión a la vía de CO₂.

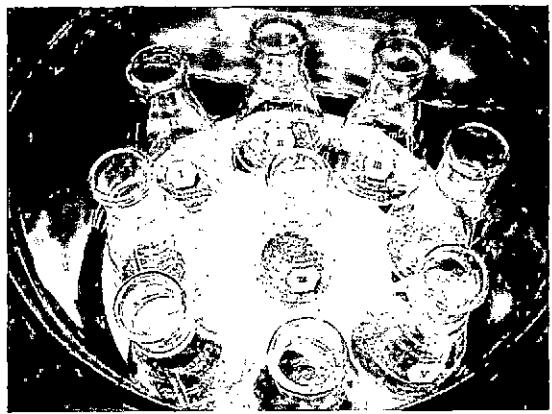


Fig. 25. Matraces *Erlenmeyer* en el desecador. Nótese el rótulo y el contenido con muestra molida.

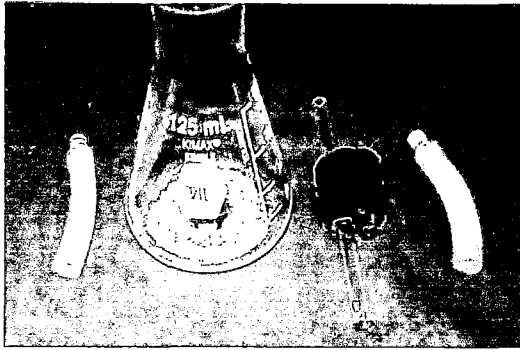


Fig. 26. Matraz con muestra y accesorios para la instalación del procedimiento.

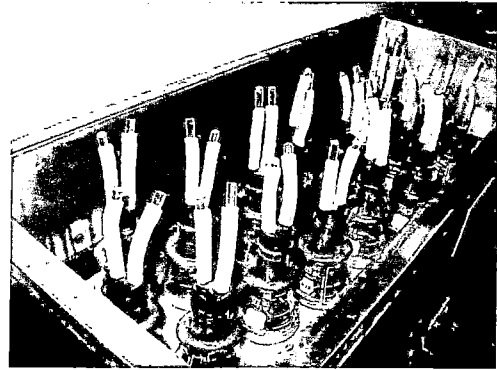


Fig. 27. Primera fase del procedimiento. Incubación de las muestras en Baño de María durante 48 horas.



Fig. 28. Homogenización manual de las muestras.



Fig. 29. Muestras en refrigeración. Nótese la cubierta protectora de cada matraz.

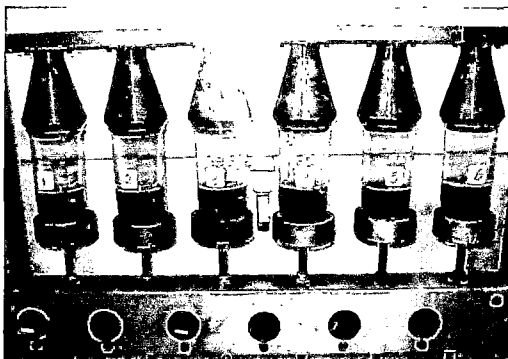


Fig. 30. Segunda fase del procedimiento. Digestión de fibra durante una hora.

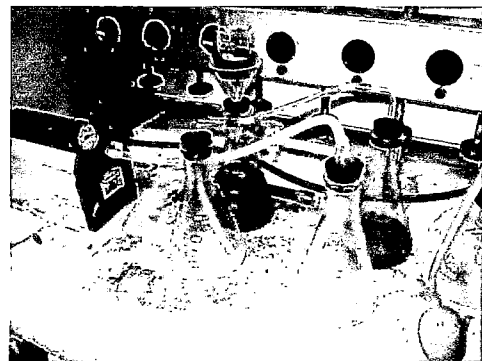


Fig. 31. Filtrado de muestras con agua destilada caliente y acetona.



Fig. 32. Crisoles en estufa durante el proceso de secado de 24 horas.

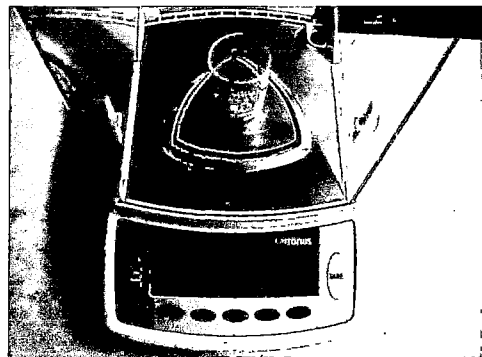


Fig. 33. Pesado de crisol con muestra seca

ANEXO 4

RESULTADO OBTENIDO DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO MEDIANTE EL PROGRAMA SAS

SURFACE RESPONSE U M CCA

25

The RSREG Procedure

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
U	0	1.680000
M	0	1.680000
CCA	0	1.680000

Response Surface for Variable DIG

Response Mean	43.049500
Root MSE	2.019292
R-Square	0.4199
Coefficient of Variation	4.6906

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	3	20.401143	0.2903	1.67	0.2362
Quadratic	3	7.045660	0.1002	0.58	0.6438
Crossproduct	3	2.065944	0.0294	0.17	0.9149
Total Model	9	29.512747	0.4199	0.80	0.6233

Residual	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Lack of Fit	5	28.977071	5.795414	2.46	0.1733
Pure Error	5	11.798343	2.359669		
Total Error	10	40.775414	4.077541		

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t	Parameter Estimate from Coded Data
Intercept	1	42.393866	0.823506	51.48	<.0001	42.393866
U	1	0.237661	0.546658	0.43	0.6730	0.399271
M	1	-0.574235	0.546658	-1.05	0.3182	-0.964715
CCA	1	1.053058	0.546658	1.93	0.0829	1.769137
U*U	1	0.448357	0.532770	0.84	0.4197	1.265444
M*U	1	0.258375	0.713928	0.36	0.7250	0.729238
M*M	1	-0.048383	0.532770	-0.09	0.9294	-0.136556
CCA*U	1	0.088125	0.713928	0.12	0.9042	0.248724
CCA*M	1	-0.428625	0.713928	-0.60	0.5616	-1.209751
CCA*CCA	1	0.561027	0.532770	1.05	0.3171	1.583444

SURFACE RESPONSE U M CCA

26

The RSREG Procedure

Factor	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
U	4	4.254690	1.063673	0.26	0.8964
M	4	6.536759	1.634190	0.40	0.8039
CCA	4	21.184564	5.296141	1.30	0.3344

SURFACE RESPONSE U M CCA

27

The RSREG Procedure

Canonical Analysis of Response Surface Based on Coded Data

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
U	0.018500	0.031081
M	-0.372200	-0.625296
CCA	-0.702269	-1.179812

Predicted value at stationary point: 41.955888

Eigenvalues	Eigenvectors		
	U	M	CCA
1.775026	0.019490	-0.298245	0.954290
1.353490	0.974565	0.218800	0.048478
-0.416185	-0.223257	0.929073	0.294924

Stationary point is a saddle point.

Universidad Nacional Agraria
 Biblioteca Agrícola Nacional

43586

The RSREG Procedure

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
U	2.000000	0.840000
M	2.000000	0.840000
CCA	96.000000	1.680000

Response Surface for Variable DIG

Response Mean	43.049300
Root MSE	2.019389
R-Square	0.4198
Coefficient of Variation	4.6909

Regression	DF	Type I Sum of Squares	R-Square	F Value	Pr > F
Linear	3	20.395415	0.2902	1.67	0.2363
Quadratic	3	7.043217	0.1002	0.58	0.6439
Crossproduct	3	2.066607	0.0294	0.17	0.9149
Total Model	9	29.505239	0.4198	0.80	0.6235

Residual	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Lack of Fit	5	28.980958	5.796192	2.46	0.1732
Pure Error	5	11.798343	2.359669		
Total Error	10	40.779301	4.077930		

Parameter	DF	Estimate	Standard Error	t Value	Pr > t	Parameter
						Estimate from Coded Data
Intercept	1	5455.918923	4927.070734	1.11	0.2941	42.393883
U	1	8.063713	137.468512	0.06	0.9544	0.398778
M	1	-84.828234	137.468512	-0.62	0.5510	-0.965207
CCA	1	-110.115698	102.377844	-1.08	0.3074	-1.768644
U*U	1	1.793006	2.131181	0.84	0.4198	1.265145
M*U	1	1.031500	2.855847	0.36	0.7255	0.727826
M*M	1	-0.193956	2.131181	-0.09	0.9293	-0.136855
CCA*U	1	-0.175250	1.427923	-0.12	0.9048	-0.247313
CCA*M	1	0.858250	1.427923	0.60	0.5612	1.211162
CCA*CCA	1	0.560922	0.532795	1.05	0.3172	1.583145

SURFACE RESPONSE U M CCA

29

The RSREG Procedure

Factor	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
U	4	4.248658	1.062165	0.26	0.8967
M	4	6.542867	1.635717	0.40	0.8037
CCA	4	21.177162	5.294291	1.30	0.3346

SURFACE RESPONSE U M CCA

30

The RSREG Procedure

Canonical Analysis of Response Surface Based on Coded Data

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
U	0.017936	2.015066
M	-0.371666	1.687800
CCA	0.702156	97.179621

Predicted value at stationary point: 41.955895

Eigenvalues	Eigenvectors		
	U	M	CCA
1.775112	-0.018172	0.298753	0.954157
1.352809	0.974702	0.217921	-0.049669
-0.416486	-0.222769	0.929116	-0.295156

Stationary point is a saddle point.