

EVALUACION DEL OXIDO CROMICO, CROMOGENOS VEGETALES Y PROTEINA
NO ASIMILABLE COMO INDICADORES PARA ESTIMAR EL CONSUMO DE FORRAJES

Tesis de Grado de Magister Scientiae

Arnulfo E. Camargo González



INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS DE LA OEA
Centro Tropical de Enseñanza e Investigación
Departamento de Ganadería Tropical
Turrialba, Costa Rica
Marzo, 1971

EVALUACION DEL OXIDO CROMICO, CROMOGENOS VEGETALES Y
PROTEINA NO ASIMILABLE COMO INDICADORES PARA
ESTIMAR EL CONSUMO DE FORRAJES

Tesis

Sometida al Consejo de Estudios Graduados como
requisito parcial para optar al grado de

Magister Scientiae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA

Permiso para su publicación, reproducción total o
parcial, debe ser obtenido en dicho Instituto

APROBADA:



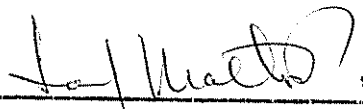
Karel Vohnout, Ph.D.

Consejero



Manuel Ruiz, Ph.D.

Comité



Joel Maltos, Ph.D.

Comité



Oscar Hidalgo-Salvatierra, Ph.D.

Comité

Marzo, 1971

DEDICATORIA

A mi hijita, Marta Beny

A mi madre

AGRADECIMIENTO

El autor desea expresar sus agradecimientos:

Al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, Zona Andina y a la Agencia Internacional de Desarrollo/Bolivia, por haber hecho posible la conclusión de mis estudios.

Al Dr. Karel Vohnout, Consejero principal, por su valiosa dirección y efectiva colaboración en el desarrollo del presente trabajo.

A los Drs. Manuel Ruiz, Joel Maltos y Oscar Hidalgo, miembros del Comité Consejero, por la sincera colaboración prestada.

Al Dr. Héctor Muñoz, Jefe del Departamento, por las facilidades brindadas.

A los profesores del Departamento de Ganadería Tropical.

A mis compañeros.

BIOGRAFIA

El autor nació en Luis Calvo, Bolivia, el 15 de agosto de 1937. Realizó estudios primarios en la Escuela Bernardo Monteagudo y de Bachillerato en los Colegios Junin y M. Asencio Padilla en Sucre. Cursó sus estudios universitarios en la Escuela de Ingeniería Agronómica de la Universidad San Francisco Xavier, donde se graduó como Ingeniero Agrónomo en enero de 1970.

En 1960 ingresó como Asistente Técnico a la Estación Experimental Ganadera de Muyurina, Santa Cruz. Con el mismo cargo trabajó también en la Estación Experimental Ganadera de Trinidad, Beni. Desde 1962 hasta la fecha prestó sus servicios como Director de las siguientes Estaciones Experimentales: Estación Experimental Ganadera de Santa Ana de Yacuma, Beni; Estación Experimental Ganadera de Trinidad, Beni y Estación Experimental Agrícola Ganadera de Corofico, La Paz.

En setiembre de 1965 ingresó como estudiante especial al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, en Turrialba, Costa Rica, para realizar estudios en la Disciplina de Zootecnia, hasta marzo de 1967. En setiembre de 1970, reingresó al IICA como estudiante graduado para concluir sus estudios, egresando en marzo de 1971.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
ABREVIATURAS DEL TEXTO	xi
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. Métodos para estimar el consumo de forrajes	3
2.1.1. Métodos directos	3
2.1.2. Métodos indirectos	4
2.2. Uso de los cromógenos vegetales como indicadores	6
2.3. Uso del nitrógeno no asimilable como indicador	7
2.4. Uso del óxido crómico como indicador	8
2.5. Otros indicadores	10
3. MATERIALES Y METODOS	11
3.1. Primer experimento	12
3.1.1. Análisis estadístico y planteamiento matemático ...	13
3.2. Segundo experimento	15
3.2.1. Análisis estadístico y planteamiento matemático ...	16
4. RESULTADOS Y DISCUSION	19
4.1. Evaluación del óxido crómico como indicador	19
4.1.1. Precisión del método	19
4.2. Evaluación de los cromógenos como indicador	22
4.2.1. Método de relación	22
4.2.2. Método de Indices fecales	30
4.3. Evaluación de la proteína no asimilable como indica- dor	34

	<u>Página</u>
4.3.1. Método de relación	34
4.3.2. Método de Indices fecales	39
4.4. Comparación entre cromógenos y proteína no asimilable usados como indicadores internos para medir consu- mo de MS	44
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
6. RESUMEN	47
6a. SUMMARY	50
7. LITERATURA CITADA	53
APENDICE	60

LISTA DE CUADROS

Cuadro N ^o		<u>Página</u>
1	Comparación entre MSF medida y MSF estimada, usando óxido crómico como indicador	19
2	Comparación entre MSC medida y MSC estimada por el método de relación, usando cromógenos como indicador	23
3	Análisis de variancia para MSC, usando cromógenos como indicador	23
4	Valores de r^2 para las ecuaciones de predicción de cada forraje, usando cromógenos como indicador	26
5	Análisis de multivariancia para factores que afectan la recuperación de los cromógenos	28
6	Comparación entre MSC medida y MSC estimada por el método de Índices fecales, usando cromógenos como indicador	31
7	Análisis de variancia para MSC, usando el método de índices fecales con cromógenos como indicador. Modelo lineal	31
8	Análisis de variancia para MSC, usando el método de índices fecales con cromógenos como indicador. Modelo logarítmico	32
9	Coefficientes de determinación y variabilidad de los cromógenos usados como indicadores en técnicas de relación e índices fecales	34
10	Comparación entre MSC medida y MSC estimada por el método de relación, usando proteína no asimilable como indicador	35
11	Análisis de variancia para MSC, usando proteína no asimilable como indicador	36
12	Valores de r^2 para las ecuaciones de predicción de cada forraje, usando proteína no asimilable como indicador.....	38

Cuadro Nº		<u>Página</u>
13	Comparación entre MSC medida y MSC estimada por el método de Índices fecales, usando proteína no asimilable como indicador	40
14	Análisis de variancia para MSC, usando el método de Índices fecales con proteína no asimilable como indicador. Modelo lineal	40
15	Análisis de variancia para MSC, usando el método de Índices fecales con proteína no asimilable como indicador. Modelo logarítmico	41
16	Coeficientes de determinación y variabilidad de la proteína no asimilable usada como indicador en técnicas de relación e Índices fecales	43
17	Comparación entre los cromógenos y la proteína no asimilable usados como indicadores para estimar consumo de MS en Técnicas de relación e Índices fecales	45

LISTA DE FIGURAS

Figura No. (Texto)	<u>Página</u>
1 Relación entre MSF medida y MSF estimada usando óxido crómico como indicador	20
(Apéndice)	
1 Concentración residual de pigmentos en muestras de pastos y heces sometidos a reflujos	62

ABREVIATURAS DEL TEXTO

CM	:	Cuadrado medio
FV	:	Fuentes de variación
GL	:	Grados de libertad
MS	:	Materia seca
MO	:	Materia orgánica
MSC	:	Materia seca consumida
MSA	:	Materia seca asimilable
MSF	:	Materia seca fecal
%IF	:	Porcentaje indicador fecal
%IA	:	Porcentaje del indicador en el alimento
%PI	:	Porcentaje de proteína no asimilable
%PF	:	Porcentaje de proteína fecal
%PC	:	Porcentaje de proteína consumida
IC	:	Indicador consumido
UFC	:	Unidades de feofitina consumida
UFF	:	Unidades de feofitina fecal
PC	:	Proteína cruda
PA	:	Proteína asimilable
$P_{0,70}$ kg	:	Peso metabólico, kg

1. INTRODUCCION

Para alimentar al ganado que pastorea, de acuerdo a sus requerimientos nutritivos es necesario conocer el consumo que los animales hacen de los pastos y de sus elementos constituyentes. Conociendo la cantidad de elementos nutritivos consumidos con el pasto, la diferencia entre consumo y requerimiento se puede suplementar mediante alimentos concentrados. Sin embargo, la estimación del consumo de los pastos por los animales en pastoreo no es tarea fácil.

Se han propuesto muchos métodos para estimar el consumo hecho por animales en pastoreo, sin embargo, aun no se cuenta con métodos de precisión aceptables.

Los métodos agronómicos o de diferencia sobreestiman el consumo de forrajes por el ganado en pastoreo. Los métodos de relación basados en el uso de indicadores, si bien son bastantes aceptables por que se fundamentan en razonamientos teóricos, su principal problema radica en conseguir muestras representativas del alimento consumido. A esto se suma la falta de indicadores que pudieran considerarse ideales. Entre los principales factores limitantes de los indicadores tenemos que el óxido crómico es retenido en el tracto digestivo; los cromógenos son afectados en alguna forma en su paso por el tracto digestivo; la proteína no asimilable es mezclada con el nitrógeno de origen metabólico y objeciones semejantes presentan otros indicadores. Finalmente las técnicas de Indices fecales, implican el uso de ecuaciones empíricas para estimar el consumo y la digestibilidad en base a productos excretorios encontrados en las heces. Estas ecuaciones solo tienen aplicación cuando son utilizadas en las condi

ciones experimentales en que fueron obtenidas.

El presente estudio tuvo como objetivos: 1) Evaluar métodos indirectos que utilizan el óxido crómico, los cromógenos vegetales y la proteína no asimilable, como indicadores para determinar consumo y asimilación de forrajes. 2) Desarrollar ecuaciones de predicción para estimar el consumo de MS. 3) Evaluar los factores que afectan la precisión de los métodos en estudio.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. Métodos para estimar el consumo de forrajes

Se conocen varios métodos para estimar el consumo de forrajes por los animales en pastoreo. Dentro de un primer grupo se pueden reunir los métodos directos o agronómicos. Un segundo grupo está constituido por métodos indirectos que utilizan indicadores o relaciones empíricas (3, 40, 44, 55).

2.1.1. Métodos directos

Un método muy conocido que se ha usado para evaluar el consumo de forrajes en pastoreo, es el "Método de la diferencia" (48, 57). Su principio radica en medir la diferencia entre el rendimiento de materia seca de superficie protegida con jaulas para prevenir el pastoreo y el rendimiento de otras áreas similares pero que hayan sido pastoreadas. La diferencia entre las áreas protegidas y las descubiertas estima la cantidad de forraje que ha desaparecido a causa del pastoreo. Existen algunas variantes al método (40, 57).

Entre las ventajas que presenta el "método de la diferencia" está su simplicidad y bajo costo (3, 40, 57). Sin embargo, el pastoreo ocasiona cambios en composición botánica y diferentes hábitos de crecimiento y defoliación en los pastos en comparación con las áreas protegidas. Las áreas protegidas presentan mayor producción de materia seca, especialmente debido a la menor compactación de su suelo (7, 50) y menor estropeo del forraje por el ganado (12). El resultado es que la cantidad estimada de consumo es siempre mayor en un

25-40% de la realmente ingerida por los animales (3, 57). Debido a la selectividad por los animales, existen diferencias entre el forraje cortado y el forraje seleccionado por el ganado; en comparación al forraje cortado el animal consigue un forraje que es más rico en proteína y con menos fibra (10).

2.1.2. Métodos indirectos

El primero en sugerir el uso de indicadores para estimar el consumo de los alimentos, fue Wildt (66) en el año 1874, indicando que si un componente indigestible estaba presente en la dieta, la digestibilidad del alimento podía ser estimada por la concentración de este componente en el alimento y en las heces sin necesidad de pesar las mismas. Hay dos maneras de emplear los indicadores en determinaciones de consumo: como "Técnica de relación" y como "Indices fecales" (3, 44, 57).

En las "Técnicas de relación" se mide la concentración del indicador en la dieta consumida y en las heces excretadas, suponiendo que el indicador consumido es excretado en su totalidad. Para obtener muestras representativas del forraje consumido, usualmente estas se extraen de animales con fístulas esofágicas o ruminales (3, 38). Se utiliza la relación: $MSC = MSF (\% IF / \% IA)$. Otros enfoques se fundamentan en el modelo: $MSC = (MSF / 100 - MSA) 100$.

En condiciones de pastoreo es necesario tomar las muestras de los pastos con auxilio de uno o más animales fistulados, los mismos que deben pastar conjuntamente con los animales del experimento durante los períodos de recolección (20, 41). Las muestras de heces

se toman 2 veces por día, generalmente del recto de los animales no fistulados (25, 41, 57). Las técnicas de relación aún no son enteramente satisfactorias para estimar el consumo, debido principalmente a los errores en el muestreo de los alimentos con animales fistulados y a la falta de un indicador adecuado. Además existen variaciones significativas entre días y entre animales respecto a la composición química y botánica de la dieta seleccionada por los animales fistulados (3, 57).

En el método de "Indices fecales" se utilizan la concentración del indicador en las heces para el desarrollo de ecuaciones empíricas de predicción. Mediante el conocimiento de los componentes de las heces fecales tomadas en estabulación se predice la asimilación de la MS o MO de un forraje similar que está sometido a pastoreo (57). Para este método el indicador no necesita ser totalmente indigestible ni de origen alimenticio para ser utilizado en el desarrollo de ecuaciones empíricas (3, 44, 57). Estas ecuaciones sólo son recomendadas como "locales", es decir, para una sola localidad, pasto y época del año (3, 67). En las técnicas de "Indices fecales", no se tiene el problema de los errores de muestreo de la dieta que presentan las técnicas de relación e in vitro, pero se incurre en el error de aplicar resultados de estabulación a condiciones de pastoreo. La digestibilidad determinada en estabulación no considera el mayor nivel de consumo de los animales en pastoreo, ni la selectividad del alimento por el ganado (3, 10).

Entre los indicadores más usados para determinar el consumo y

asimilación, tanto en técnicas de relación como de índices fecales, se tienen: cromógenos vegetales, nitrógeno no asimilable, sílica y lignina. Estos compuestos ocurren naturalmente en las plantas, razón por la cual se les llama "indicadores internos". Para estimar la producción fecal el indicador más usado es el óxido crómico (3, 44, 57).

2.2. Uso de los cromógenos vegetales como indicadores

Reid et al. (54) encontraron que era posible extraer los pigmentos vegetales de los alimentos y de las heces con una solución acuosa de 85% de acetona. A estos extractos los denominaron "cromógenos". Algunos autores (9, 15, 26), han modificado parcialmente el método original de análisis. Entre los pigmentos vegetales, el más útil como indicador es la clorofila, que se degrada en el tracto digestivo de los animales para formar la feofitina (24). El color de la feofitina es inestable a la luz blanca durante la extracción y reposo de los extractos cromogénicos (3, 25, 30), por lo que las variaciones en metodología se han referido a estandarizaciones para obtener valores de recuperación lo más cercanos al 100% (26, 58).

Los cromógenos ofrecen la ventaja de que son sustancias naturales del forraje, aparentemente indigestibles y fáciles de extraerlos con acetona al 85%, tanto del alimento ofrecido como de las heces (51, 54). Sin embargo, el procedimiento analítico de laboratorio está sujeto a errores experimentales relativamente grandes por la rigurosa estandarización del método debido a la inestabilidad del color,

o debido a extracciones incompletas (3, 26, 30, 57).

No todos los investigadores están de acuerdo con la indigestibilidad de los cromógenos (3, 44, 57). Se informa también que en ciertas especies forrajeras que contienen altos niveles de extracto etéreo, parte de los cromógenos son absorbidos y eliminados en la orina (11). Algunos pigmentos de ciertas plantas son asimilables (63) o sufren transformaciones químicas al atravesar el tracto digestivo de los animales (44, 60).

2.3. Uso del nitrógeno no asimilable como indicador

Lancaster(37) fue el primero en reportar que el nitrógeno excretado en las heces era un valor constante. Se dijo que la proteína era totalmente asimilable y el nitrógeno presente en las heces era exclusivamente de origen metabólico y excretado en cantidades proporcionales al consumo de materia seca. Sin embargo, el nitrógeno fecal varía también de acuerdo al contenido de proteína del alimento (18, 68). Por trabajos recientes (23, 57) se sabe que la proteína del alimento es asimilada en valores constantes, siendo la fracción no asimilable aproximadamente de 5-7%. Esta fracción no asimilable es la que puede usarse como indicador. Se considera como nitrógeno no asimilable al nitrógeno presente en las heces, quedando dentro del error experimental la porción correspondiente al nitrógeno metabólico. Con este criterio, se han desarrollado ecuaciones empíricas para predecir la asimilación o consumo de los forrajes (1, 39, 52). Para estimar la proteína no asimilable Holter y Reid (23) desarrollaron la fórmula $\% \text{PI} = 0,074 (\% \text{PC}) + 3,48$.

La ventaja de usar el nitrógeno como indicador radica principalmente en que las determinaciones de laboratorio son fáciles y precisas. Además, la mayoría de los laboratorios están equipados para determinarlo. Sin embargo, el uso del nitrógeno como indicador se ve afectado por la variabilidad de su excreción en las heces, independientemente del nivel de proteína consumida (3, 18, 57). Esta variabilidad tiene varios orígenes. Se ha encontrado diferencias entre especies de pastos (1, 22, 64), estado de crecimiento de las plantas (22, 56), épocas del año (1, 35, 57), oportunidad que se dea los animales para seleccionar su dieta y la nutrición de la planta (10, 57). También se han encontrado diferencias entre animales, de acuerdo a las condiciones fisiológicas en que se encuentran éstos (2, 39). Todos los factores indicados afectan la secreción de las enzimas del tracto digestivo de los animales, que son proteínas.

2.4. Uso del óxido crómico como indicador

El óxido crómico es el más usado entre las sustancias propuestas como indicadores externos para medir la producción de heces. La técnica más generalizada para administrar el óxido crómico es presentarlo en forma de pastillas mezclado con harina, impregnado en papel o dentro de una cápsula de gelatina (20, 36, 41). Cuando los animales consumen únicamente forrajes, se puede administrar el óxido crómico como toma en una suspensión de bentonita (53). El óxido erómico puede también mezclarse en forma uniforme con el alimento concentrado (31). Entre los métodos más recomendados que se usan para

obtener muestras de las heces se tiene el muestreo directo del recto y la recolección de heces del suelo. En el primero, los animales que reciben la dosis 2 veces por día (mañana y tarde), son muestreados también 2 veces por día; y en el segundo, se toman las muestras de heces desde el suelo, seleccionando las deposiciones al azar (3). Algunos investigadores recomiendan este último sistema de muestreo de heces, indicando que reduce el error en la recuperación del óxido crómico (38, 53).

La ventaja del óxido crómico se basa en que es una sustancia química inerte y no asimilable (44, 57). Su costo es relativamente bajo en el comercio. Sin embargo, el óxido crómico no logra mezclarse completamente con las ingestas y posiblemente parte es retenido en los pliegues del tracto digestivo (3, 33). Estos factores determinan una recuperación incompleta del indicador, dando como resultado una sobreestimación de las heces (3). Sin embargo se informa de recuperaciones del 100% (34, 35). La variación en la concentración del óxido crómico de las heces puede reducirse aumentando el número de dosis para 24 horas, habiéndose llegado a suministrar hasta 6 dosis por día (35). Como este procedimiento tiene poco valor práctico, se ha sugerido proporcionar más de una dosificación por día (10, 21). Las cantidades recomendadas de óxido crómico por día son de 2 gramos para ovinos y 20 gramos para bovinos, en una o dos dosificaciones por día (8, 10, 25).

2.5. Otros indicadores

La lignina ocurre naturalmente en las plantas y no es asimilable al atravesar el tracto digestivo de los animales, razón por la que es utilizada como sustancia indicadora para estimar consumo y asimilación de los forrajes (3, 65). Sin embargo hay alguna contradicción al respecto, pues se ha reportado que los micro-organismos del rumen del ganado ovino y vacuno son capaces de digerir la lignina (14, 44, 62). La lignina es de difícil determinación en el laboratorio, pues durante el análisis se forman sustancias que producen una sobreestimación de esta entidad (65).

También se ha sugerido la sílica como indicador interno por que este componente está presente en las plantas al igual que los cromógenos, el nitrógeno y la lignina. Jones y Handreck (28) fueron los primeros en utilizarla en dietas ofrecidas en forma de cubos. Sin embargo se ha reportado que la sílica presenta ciertas limitaciones para su uso, pues es retenida en forma muy variable por el organismo animal (42, 49), y además resulta difícil evitar que se consuma con partículas del suelo (16).

3. MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se llevó a cabo en la Estación Experimental y Laboratorios del Departamento de Ganadería Tropical del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, en Turrialba, Costa Rica. Turrialba se encuentra en una zona tropical a 600 m de altitud, con una temperatura media anual de 22°C, aproximadamente 3.000 mm de precipitación anual y humedad relativa promedio de 90%. Se han utilizado datos coleccionados en dos experimentos. El primer experimento se realizó desde mayo 1964 a mayo 1965 (25). El segundo experimento de noviembre 1969 a mayo 1970 (64). Con muestras colectadas en el segundo experimento se realizaron trabajos complementarios de laboratorio que concluyeron en diciembre de 1970.

Para hacer la evaluación de los métodos estudiados en este trabajo, se usaron los siguientes criterios:

- 1) Prueba de "t" para observaciones pareadas, para comparar el consumo verdadero medido directamente, con el consumo estimado en forma indirecta mediante el uso de indicadores.
- 2) Regresiones, para evaluar qué cantidad de la variabilidad está controlada por las variables usadas (R^2). Las regresiones se usaron también para desarrollar ecuaciones para predecir el consumo de forrajes en función de parámetros de más fácil medición. En estos casos, como un artificio estadístico, el consumo de forraje fue definido como variable dependiente de las concentraciones de los indicadores, cuando en realidad se trata de una variable independiente.

3.1. Primer experimento

En este experimento se midió el consumo del pasto Pangola (Digitaria decumbens) directamente por colección total del alimento e indirectamente mediante el uso de los indicadores cromógenos, proteína no asimilable y óxido crómico. El pasto se ofreció picado y ad libitum a 4 novillos en estabulación, realizándose 4 pruebas de consumo y asimilación que abarcaron 8 días de preparación y 5 de recolección total de heces. Durante estos 13 días se suministró también óxido crómico a los animales (25).

Las determinaciones de cromógenos se hicieron usando muestras húmedas de pastos y heces, y fueron analizados por el método esquematizado por Iturbide y Bateman (26). El nitrógeno por el método de Micro-Kjeldahl, recomendado por la AOAC (4) y el óxido crómico se determinó en base seca, según el procedimiento descrito por Czarnocki et al. (13).

Para estimar el efecto de la longitud de onda y del tiempo de reposo de los extractos cromogénicos sobre la recuperación del indicador, se utilizaron las muestras compuestas de heces de cada animal. Las determinaciones del color se hicieron a 400, 405, 410, 415, 420, 425 y 430 m μ de longitud de onda del espectrofotómetro, luego de 0, 12, 24 y 48 horas de reposo de los extractos, dando un total de 28 análisis por cada muestra.

3.1.1. Análisis estadístico y planteamiento matemático

Para estimar la precisión de las determinaciones indirectas del consumo de alimento y de la producción fecal, se realizaron varios análisis de regresión y pruebas de "t". Para el caso de los indicadores, cromógenos y proteína no asimilable, el consumo de MS se obtuvo indirectamente por medio de la relación teórica.

$$MSC = MSF \frac{\% IF}{\% IA} = X_1 \quad [1]$$

Para el caso del indicador óxido crómico, la producción fecal se obtuvo indirectamente por medio de la relación teórica.

$$MSF = \frac{IC}{\% IF} = X_2 \quad [2]$$

Los datos experimentales fueron sometidos al análisis de regresión usando el siguiente modelo equivalente a las relaciones [1] y [2]

$$\hat{Y}_i = a + bX_j \quad [3]$$

en que:

$$Y_1 = MSC \text{ verdadera}$$

$$Y_2 = MSF \text{ verdadera}$$

$$a = \text{Valor de } Y \text{ cuando } X = 0$$

$$b = \text{Coeficiente de regresión}$$

$$X_1 = \text{Definido en la relación [1]}$$

$$X_2 = \text{Definido en la relación [2]}$$

Si las relaciones [1] y [2] son verdaderas, la ecuación [3] debe presentar los valores de $a = 0$ y de $b = 1$.

Para evaluar las diferencias entre MSC determinada por colección total con la materia seca estimada en forma indirecta se hicieron las siguientes pruebas de "t" para observaciones pareadas:

- a) MSC verdadera medida por colección total vs MSC estimada por el "método de cromógenos".
- b) MSC verdadera medida por colección total vs MSC estimada por el "método de la proteína no asimilable".
- c) MSF verdadera medida por colección total vs MSF estimada por el "método del óxido crómico".
- d) MSF verdadera medida por colección total vs MSF estimada por el "método del óxido crómico" y corregido por la ecuación de regresión [3].

Con el propósito de encontrar factores de corrección, las determinaciones colorimétricas realizadas a siete diferentes longitudes de onda y cuatro diferentes tiempos de reposo de los extractos fueron sometidos al análisis de regresión dentro de la sub-sub-clase (determinaciones/animales/pruebas). Se usó el modelo siguiente:

$$\hat{Y} = b_0 + b_1\lambda + b_2h + b_{11}\lambda^2 + b_{22}h^2 + b_{12}\lambda h \quad [4]$$

en que:

- λ = Longitud de onda
- h = Tiempo de reposo de los extractos
- Y = IC/IF (Si es que la relación [1] es verdadera, entonces IC/IF = MSC (UFC)/MSF (UFF) = 1)
- b_j = Coeficientes parciales de regresión

Cualquier desviación de la función Y con relación a la unidad es el resultado de los efectos de los factores en estudio. Para eliminar los efectos debidos a factores tales como las replicaciones de las pruebas de consumo y los animales sobre la relación Y, se hizo un análisis de multivariancia. Los efectos de longitud de onda y tiempo de reposo de los extractos se evaluaron con el análisis de regresión dentro de determinaciones/animales/pruebas. El término "recuperación" utilizado se debe interpretar como "recuperación aparente" de los cromógenos, por que está referido a un proceso netamente de laboratorio e independientemente del efecto de los animales y de los pastos.

3.2. Segundo experimento

En este experimento se realizaron 18 pruebas de consumo y asimilación con los pastos Pangola (Digitaria decumbens), Guinea (Panicum maximum), Elefante (Pennisetum purpureum), Pará (Brachiaria mítica), Alemán (Echinochloa polystachia) y Gamalote (Paspalum fasciculatum). Cada una de estas especies estuvo representada por 3 edades: 4, 8 y 12 semanas. Los pastos previamente picados fueron ofrecidos ad libitum a los animales 2 veces por día (tarde y mañana). Los primeros 8 días sirvieron para habituar los animales al consumo del forraje correspondiente; de los días 8 a 12 se midió el consumo y de los días 10 a 15 la producción fecal, por colección total. Para los análisis de laboratorio se tomaron muestras 3 veces por día de las bolsas colectoras, las mismas que se juntaron para obtener

muestras compuestas de cada animal. Se utilizaron animales hembras pertenecientes a las razas Criollo, Criollo-Jersey y Jersey. Totalizaron el experimento 72 cabezas con pesos entre 150 y 450 kg de peso vivo (64).

Las determinaciones de proteína fueron realizadas utilizando el método de Micro-Kjeldahl, según recomendaciones de la AOAC (4). Luego se corrigieron por pérdidas en el secado, con la ecuación de Juko et al. (29):

$$\hat{Y} = 0,120 + 1,125 X \quad [5]$$

en que:

Y = Porcentaje de N corregido por las pérdidas durante el secado.

X = Porcentaje de N en la muestra seca.

La concentración de proteína no asimilable se estimó con la ecuación de Holter y Reid (23)

$$\hat{\% PI} = 3,480 + 0,074 (\% PC) \quad [6]$$

Para la determinación de pigmentos vegetales se usó una modificación de los métodos descritos por Reid et al. (54) e Iturbide y Bateman (26), la cuál se presenta en el Apéndice.

3.2.1. Análisis estadístico y planteamiento matemático

En el presente estudio se utilizó un diseño irrestrictamente al azar, donde los pastos constituyeron las 6 unidades mayores, los animales las sub-clases y las edades del pasto las sub-sub-clases.

Con la finalidad de estimar la precisión de las determinaciones indirectas de consumo de alimento usando los indicadores cromógenos y proteína no asimilable se efectuaron varios análisis de regresión y pruebas de "t".

Los datos de consumo de MS medidos directamente y los datos obtenidos indirectamente por medio de la relación [1] fueron sometidos al análisis de regresión, usando el siguiente modelo, equivalente a la relación [1].

$$\hat{Y} = b_0 \frac{X_1^{b_1} X_3^{b_3}}{X_2^{b_2}} \quad [7]$$

en que:

Y = MSC verdadera

X₁ = % IF

X₂ = % IA

X₃ = MSF verdadera

b_j = Coeficientes parciales de regresión

Si la relación [1] es verdadera, los valores para los coeficientes parciales de regresión, b₀, b₁, b₂ y b₃ deberán ser igual a la unidad.

Para evaluar las diferencias entre la materia seca consumida determinada por colección total y la MSC estimada en forma indirecta se efectuaron las siguientes pruebas de "t" para observaciones pareadas:

- a) MSC verdadera-medida por colección total vs MSC estimada por el "método de cromógenos".

- b) MSC verdadera medida por colección total vs MSC estimada por el "método de cromógenos" y corregida por la regresión [7].
- c) MSC verdadera medida por colección total vs MSC estimada por el "método de proteína no asimilable".
- d) MSC verdadera medida por colección total vs MSC estimada por el "método de proteína no asimilable" y corregida por la regresión [7].

También se estimó el consumo de MS usando los siguientes modelos empíricos:

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_4 X_4 \quad [8]$$

$$\hat{Y} = b_0 + X_1^{b_1} X_2^{b_2} X_3^{b_3} X_4^{b_4} \quad [9]$$

en que:

Y = MSC verdadera

$X_1 = P_{kg}^{0,70}$ (para el modelo lineal)

= Peso del animal, kg (para el modelo logarítmico)

$X_2 = \% IF$

$X_3 = MSF verdadera$

$X_4 = \% IA$

$b_j =$ Coeficientes parciales de regresión

Los modelos [8] y [9] fueron usados para estimar el consumo de forrajes a partir de variables más fáciles de medir, tales como el peso de los animales, las unidades de feofitina consumidas, y el porcentaje de proteína fecal. El uso de las variables X_1 y X_3 se ajusta al criterio de Indices fecales.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Evaluación del óxido crómico como indicador

4.1.1. Precisión del método

La producción fecal promedio medida en forma directa y la producción fecal promedio estimada en forma indirecta para el pasto Pangola, se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Comparación entre MSF medida y MSF estimada, usando óxido crómico como indicador.

	Método directo	Estimado con óxido crómico *		r ²
		Sin corregir	Corregido*	
Promedio heces kg/día	1,63	1,84	1,56	0,83

* Corregido con la ecuación [10]

Como se observa en el Cuadro 1 el promedio de MSF medido en forma directa fue de 1,63 kg/día y el promedio de MSF obtenido en forma indirecta utilizando la relación [2] fue de 1,84 kg/día. Realizada una comparación de estos promedios mediante la prueba de "t" para observaciones pareadas, se encontró que las diferencias fueron significativas ($P \leq 0,01$).

El análisis de regresión usando el modelo [3] generó la ecuación siguiente para la producción fecal:

$$\hat{Y} = -0,020 + 0,899 X \quad [10]$$

en que:

Y = MSF medida directamente

X = MSF estimada por la relación IC/% IF

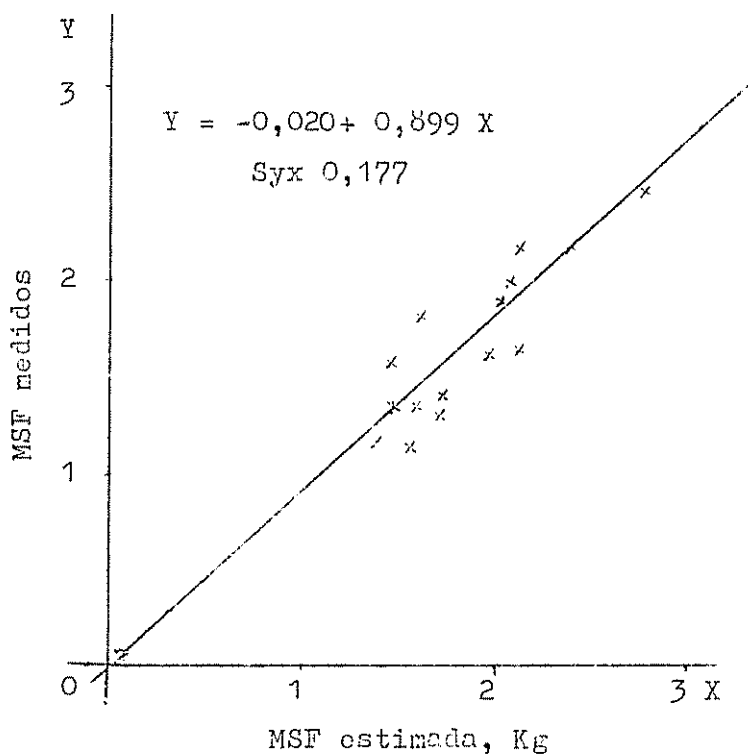


Figura 1. Relación entre MSF medida y MSF estimada usando óxido crómico como indicador.

El gráfico de la Figura 1 corresponde a la ecuación [10]. Del mismo se observa para los datos la tendencia lineal esperada, con la curva casi cruzando el origen. La ecuación [10] se ajusta a los datos con un valor de $r^2 = 0,83$, y con un coeficiente de variabilidad para S_{yx} de 11,0%. Como se puede ver del Cuadro 1, la estimación de la MSF mejoró cuando los datos obtenidos con la relación [2] fueron

corregidos usando la ecuación [10]. Los promedios fueron de 1,63 y 1,56 kg/día de MSF, medidos en forma directa y estimados por la ecuación [10], respectivamente. Comparando estos resultados mediante la prueba de "t" para observaciones pareadas, esta vez ya no se detectaron diferencias significativas. Sin embargo, la precisión de la predicción de la ecuación [10] resulta inferior a los valores de $r^2 = 0,96$ y $0,96$ encontrados por Smith y Reid (61). Es necesario aclarar que los novillos utilizados en el presente experimento fueron muy semejantes y el número de observaciones fue de solo 15. Sería posible aumentar la correlación entre las variables de la ecuación [10] aumentando el dominio de la función, es decir, utilizando a animales de diferentes pesos para que los valores de MSF sean más espaciados. Sin embargo, se observa que la ecuación [10] se ajusta a lo esperado, pues el valor $a = -0,020$ es muy cercano a cero, y el valor $0,899$ está próximo a la unidad.

En el Cuadro 1 se puede ver que el promedio de la MSF estimada por la relación [2] es mayor que la MSF medida, lo que implica que la recuperación del óxido crómico en las heces fue incompleta. Según la ecuación [10] la recuperación fue solamente del 89,9%. Estos resultados están de acuerdo con Arnold (3) que informa que se logra un recobro fecal completo del óxido crómico en muy raras ocasiones, dando como resultado una sobreestimación de las heces fecales. Generalmente las bajas recuperaciones del óxido crómico son debidas a la retención del indicador en el tracto digestivo de los animales, a errores cometidos en la toma y preparación de las muestras compuestas

y también a errores analíticos (5, 33, 57). En el presente estudio la recuperación incompleta del óxido crómico pudo deberse más bien a muestreo anticipado, es decir a un muestreo realizado antes de que el nivel de excreción del óxido crómico sea constante. Usando bolos de harina como vehículo del óxido crómico, esto ocurre a partir del sexto día de dosificación (A. Pérez y K. Vohnout)*. En el presente experimento la colección de las heces se inició a partir de las 48 horas después de administrar el indicador, lo que explicaría la recuperación incompleta, según se puede ver en el Cuadro 1. Al aplicar la ecuación [10], la sobreestimación de la MSF corrige mediante el coeficiente 0,899.

4.2. Evaluación de los cromógenos como indicador

4.2.1. Método de relación

El consumo de MS medido y el consumo de MS estimado para las 6 especies de pastos, se presenta en el Cuadro 2.

Como se ve en el Cuadro 2, el promedio de consumo de MS medido directamente fue de 4,30 kg/día. El promedio de consumo obtenido en forma indirecta usando la relación [1] fue de 4,07 kg/día. Comparando estos promedios mediante la prueba de "t" para observaciones pareadas, se encontró que las diferencias no fueron significativas.

* Comunicación personal. Estudiante graduado y profesor del CTEI de Turrialba, respectivamente, 1971.

Cuadro 2. Comparación entre MSC medida y MSC estimada por el método de relación, usando cromógenos como indicador.

Pastos	Promedio consumido kg/día		
	Método directo	Estimado por relación	
		Sin corregir	Corregido ^(a)
Pará	3,56	3,14	3,64
Elefante	5,36	4,41	4,85
Alemán	4,68	4,38	4,36
Pangola	3,62	4,70	4,00
Guinea	4,80	4,56	4,85
Gamalote	3,75	3,24	3,71
Promedio total	4,30	4,07	4,23

(a) Valores ajustados para la ecuación [11].

Cuadro 3. Análisis de variancia para MSC, usando cromógenos como indicador.

Fuente de variación	G. L.	CM	R ²	CV
Regresión/animales/pastos	3	0,30736**	0,84	
Desviación del modelo	66	0,00271		13,0%

** = P ≤ 0,01

El análisis multidimensional generó la ecuación siguiente para la predicción de la MSC:

$$\hat{Y} = (3,28) (X_1^{0,430}) (X_2^{-0,147}) (X_3^{0,942}) \quad [11]$$

en que:

Y = MSC verdadera

X₁ = UFF

X₂ = UFC

X₃ = MSF verdadera

Comparando la ecuación [11] con la ecuación esperada: $Y = X_1 X_2^{-1} X_3$ que representa a la relación [1] (Materiales y Métodos) se observa que la constante $b_0 = 3,28$ y los coeficientes de regresión no son los valores unitarios esperados. Sin embargo, se puede observar en el Cuadro 3 que la ecuación [11] se ajusta a los datos con un valor de $R^2 = 0,84$ presentando un coeficiente de variabilidad para Sy_{x_i} de 13,0%.

La estimación del consumo de MS mejoró cuando los valores obtenidos con la relación [1] fueron corregidos mediante la ecuación [11]. Como se puede ver en el Cuadro 2, los promedios fueron 4,30 y 423 kg/día para el consumo de MS medido directamente y estimado por la ecuación [11], respectivamente. Comparando estos promedios mediante la prueba de "t" para observaciones pareadas, también se encontró que las diferencias no fueron significativas.

La predicción mejoró hasta $r^2 = 0,87$ al ampliar la estratificación de las fuentes de variabilidad incluyendo también las edades de

los pastos. La ecuación generada por la regresión dentro de animales/edades/pastos fue:

$$\hat{Y} = 0,454 + 0,942 X \quad [12]$$

en que:

$$Y = \text{MSC verdadera}$$

$$X = \text{MSF} \left(\frac{\text{UFF}}{\text{UFC}} \right)$$

Al ampliar la estratificación no fue posible usar el modelo [7] utilizado en la ecuación [11] con cuatro variables, pues el experimento incluyó sólo cuatro animales/edad/pastos. Cuatro observaciones para cuatro variables no dejan grados de libertad disponibles para la desviación del modelo. En la ecuación [12] se observa que el valor $a = 0,454$ se aleja del valor cero esperado para el modelo [3]. Sin embargo, el valor $b = 0,942$ es cercano al valor unitario esperado. Esta situación, al igual que con la ecuación [11], hace pensar que cuando se utilizan los cromógenos como indicadores existen variables no consideradas en los modelos [3] y [7].

Los valores para r^2 calculados usando el mismo modelo [3] para cada uno de los pastos en forma independiente se presentan en el Cuadro 4.

A pesar de la estratificación de las fuentes de variabilidad, la precisión de la predicción de las ecuaciones [11] y [12] es inferior a los valores de $r^2 = 0,98$ encontrados por investigadores de Cornell (55) para predecir coeficientes de digestibilidad de forrajes de zonas templadas. Sin embargo, la alegada precisión no ha sido reproducible en otros laboratorios que han preferido el uso de

Cuadro 4. Valores de r^2 para las ecuaciones de predicción de cada forraje, usando cromógenos como indicador.

Pastos	r^2
Pará	0,79
Elefante	0,70
Alemán	0,91
Pangola	0,24
Guinea	0,49
Gamalote	0,70

regresiones locales (19, 32). El grupo de Cornell prefirió posteriormente promover el uso del nitrógeno no asimilable como indicador, en reemplazo de los pigmentos cromogénicos (23, 57).

Los factores que afectan la precisión del método se puede dividir en dos grupos. Los factores que constituyen variables continuas y los que constituyen variables discontinuas. El primer grupo puede controlarse mediante ecuaciones de predicción. Son variables de este tipo, la longitud de onda en la que se hacen las lecturas del color de los pigmentos en el laboratorio y el tiempo que se deja reposar los pigmentos luego de la extracción con ácido oxálico. En el segundo grupo de variables están principalmente el tipo de forraje, el efecto del proceso digestivo en los animales y los errores de análisis en el laboratorio.

Los resultados del primer experimento justifican los efectos de algunos factores que afectan el método. Como se observa en el Cuadro 5, el efecto de los animales sobre la recuperación de los pigmentos fue significativo ($P \leq 0,01$). A pesar de que la variabilidad fue considerable, no sucedió así con el efecto de las pruebas de consumo, posiblemente por la magnitud del efecto de los animales/pruebas. También fueron significativos ($P \leq 0,01$) los efectos de las variables continuas, longitud de onda y tiempo de reposo. Los coeficientes de variabilidad de 18,4% para animales/pruebas, 14,3% para determinaciones de laboratorio y 12,3% para replicaciones de las pruebas de consumo, reflejan la magnitud de la variabilidad de cada uno de los factores considerados como variables discontinuas.

La ecuación generada para corregir la recuperación por el efecto de longitud de onda y el tiempo de reposo, independientemente del efecto de las pruebas y de los animales, fue la siguiente:

$$Y = 18,3 - 0,0757\lambda + 0,0171h + 0,000084\lambda^2 - 0,000078h^2 - 0,000049 \lambda h$$

[13]

en que:

Y = Unidades de feofitina

λ = Longitud de onda, m μ

h = Tiempo de reposo de las muestras, horas

Como se puede ver en el Cuadro 5, la ecuación [13] presenta un coeficiente de determinación (r^2) de 0,93. Estos resultados concuerdan con varios investigadores que han encontrado que la longitud de onda afecta los resultados de recuperación aparente del indicador

Cuadro 5. Análisis de multivariancia para factores que afectan la recuperación de los cromógenos.

Fuente de variación	G.L.	CM	E ²	Recuperación promedio %	CV	R ²
Pruebas de consumo	3	3,130	0,021	85	12,3	
Animales/pruebas (Error a)	8	1,372**	0,047		18,4	
Determ./A/E (Error b)	324	0,050				
Regresión (a)	5	1,444**				0,93
Desviación del modelo (Error c)	22	0,024				
Interacciones (Error d)	297	0,029	0,028(c)		14,3	
Total						

** = $P \leq 0,01$

(a) Longitud de onda y reposo de los extractos (determinaciones/animales/pruebas).

(b) Con relación a la sub-clase.

(c) Atribuible al análisis de laboratorio.

(52, 54). Para disminuir los efectos de la longitud de onda sobre la recuperación aparente del indicador, Minsson (46) e Iturbide y Bateman (27) han recomendado que las lecturas de densidad óptica sean realizadas a 415 m μ . Los extractos cromogénicos de pastos y heces han demostrado inestabilidad del color después de la extracción, lo que sugiere que están sufriendo transformaciones químicas (27, 30, 54), recomendándose hacer las lecturas espectrofotométricas 24 horas después de la extracción. Sin embargo, Kane y Jacobson (30) haciendo lecturas a 48 horas informan incrementos del 37% en las recuperaciones aparentes de los cromógenos. Aplicando las recomendaciones de 415 m μ y 24 h a la ecuación [13] se obtuvo un factor de corrección de $\hat{Y} = 1,23$ lo que significa una "recuperación aparente" de solo 81%. El valor 0,81 es la recíproca de 1,23 y se deriva de la siguiente consideración: del modelo [4] se obtiene que MSC (UFC) = [MSF (UFF)] (Y). Se esperaría que el valor de Y sería igual a la unidad. Sin embargo $\hat{Y} = 1,23$, lo que implica que MSC (UFC) > MSF (UFF). En otras palabras el indicador consumido resultó ser mayor que el indicador fecal, o sea que la "recuperación" fue menor al 100%. Este valor de 0,81 resulta ser muy inferior al encontrado por Iturbide y Bateman (27), quienes con los mismos datos y trabajando a 415 m μ y 24 horas de reposo, informan haber obtenido recuperaciones aparente cercanas al 100%.

La significativa ($P \leq 0,01$) variabilidad en la recuperación de los extractos cromogénicos debido al efecto de los animales (CV = 18,4) implica que el paso de los pigmentos por el tracto digestivo

afecta significativamente la recuperación de los extractos cromogénicos en las heces. Este efecto ha sido informado en anteriores trabajos (3, 11, 57, 58).

Los presentes resultados experimentales justifican el uso de los cromógenos como indicadores en pruebas de asimilación y de consumo de alimentos. A pesar de que las ecuaciones [11] y [12] son suficientemente representativas para forrajes tropicales y mejoran la precisión de la estimación en condiciones diferentes a las del presente experimento, es arriesgado utilizar factores de corrección desarrollados con ecuaciones de regresión. Por consiguiente, para obtener estimaciones aceptables del consumo de MS es posible utilizar solamente la relación [1] sin necesidad de recurrir a los ajustes con las ecuaciones de regresión. Se requieren aclarar que la ecuación [13] no es aplicable a los valores sin corregir del Cuadro 2, obtenidos de la relación [1] por que dicha ecuación fue generada con muestras procesadas húmedas (primer experimento). En contraste, los valores del Cuadro 2 fueron obtenidos con muestras secadas al aire a 105°C (segundo experimento), desconociéndose los efectos del secado sobre la "recuperación" de los cromógenos.

4.2.2. Método de Índices fecales

El consumo de la materia seca promedio para las seis especies de pastos medido directamente y el consumo de MS estimado por el método de Índices fecales, se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Comparación entre MSC medida y MSC estimada por el método de Índices fecales, usando cromógenos como indicador.

	Método directo	Método de índices fecales	
		Función lineal	Función Logarítmica
Promedio consumo kg/día	4,30	4,30 ^(a)	4,29 ^(b)

(a) ajustadas con la ecuación lineal [8]

(b) ajustadas con la ecuación logarítmica [9]

Como se observa en el Cuadro 6, el promedio de consumo de MS medida directamente fue de 4,30 kg/día. El promedio obtenido en forma indirecta usando el modelo lineal [8] fue de 4,30 kg/día y 4,29 kg/día, usando el modelo logarítmico [9].

Cuadro 7. Análisis de variancia para MSC, usando el método de Índices fecales con cromógenos como indicador. Modelo lineal.

Fuente de variación	G.L.	CM	R ²	CV
Regresión/animales/pastos	4	23,18**	0,86	
Desviación del modelo	62	0,25		11,6%

** $P \leq 0,01$

Con el modelo lineal el análisis de multivariancia generó la ecuación siguiente para predicción de la MSC:

$$\hat{Y} = - 0,925 + 0,011 (X_1) + 8,657 (X_2) + 1,907 (X_3) - 7,712 (X_4) \quad [14]$$

en que:

Y = MSC verdadera

$X_1 = P_{kg}^{0,70}$

$X_2 = UFF$

$X_3 = MSF$ verdadera

$X_4 = UFC$

Como se puede ver en el Cuadro 7 la ecuación [14] se ajusta a los datos con un valor de $R^2 = 0,86$ y con un coeficiente de variabilidad para Sy_{x_i} de 11,6%.

Cuadro 8. Análisis de variancia para MSC, usando el método de Índices fecales con cromógenos como indicador. Modelo logarítmico.

Fuente de variación	G.L.	CM	R^2	CV
Regresión/animales/pastos	4	0,2313**	0,84	
Desviación del modelo	62	0,0027		13,0%

** $P \leq 0,01$

Con el modelo logarítmico el análisis de multivariancia generó la ecuación siguiente para la predicción de la MSC:

$$\hat{Y} = (2,26) (X_1^{0,080}) (X_2^{0,411}) (X_3^{0,847}) (X_4^{-0,127}) \quad [15]$$

en que:

Y = MSC verdadera

X₁ = Peso del animal, kg

X₂ = UFF

X₃ = MSF verdadera

X₄ = UFC

En el Cuadro 8 se ve que la ecuación [15] presenta un coeficiente de determinación de $R^2 = 0,84$, con un coeficiente de variabilidad para Sy_{x_i} de 13,0%. La precisión de las ecuaciones [14] y [15] es menor que los valores reportados por otros laboratorios. Wittke (67), trabajando con pastos de zonas templadas obtuvo coeficientes de determinación de 0,96 a 0,98 para las ecuaciones de predicción. Sin embargo estimó el consumo para cada forraje en forma independiente y con una sola prueba. Igualmente Reid et al. (55), trabajando con 4 forrajes formados por la asociación de 18 especies forrajeras, encontraron valores para $R^2 = 0,92$. Varios autores han usado el método de Índices fecales empleando como indicador los cromógenos y han obtenido resultados aceptables desde el punto de vista de precisión. Sin embargo, no ha podido lograrse concordancia entre resultados obtenidos en diferentes laboratorios (19, 32, 43, 55).

Comparando la precisión de predicción que se puede obtener con el método de relación y con el método de índices fecales (Cuadro 9) no se encuentra que el segundo método incrementó la precisión de la

predicción del consumo de MS, por lo que no hay razón suficiente para recomendar su uso.

Cuadro 9. Coeficientes de determinación y variabilidad de los cromógenos usados como indicadores en Técnicas de relación e Índices fecales.

Métodos	R ²	CV
Método de relación	0,84	13,0%
Método de Índices fecales		
Modelo lineal	0,86	11,6%
Modelo logarítmico	0,84	13,0%

El método de relación es más conveniente por que está basado en el razonamiento lógico. Por el contrario, las ecuaciones desarrolladas usando el método de Índices fecales son empíricas y sólo podrían reemplazar el método de relación en caso de presentar significativa superioridad en la precisión de predicción. Por lo tanto, por los resultados del presente trabajo se recomienda el uso del método de relación para estimar el consumo de MS.

4.3. Evaluación de la proteína no asimilable como indicador

4.3.1. Método de relación

El consumo de MS medido y el consumo de MS estimado para las 6 especies forrajeras se presenta en el Cuadro 10, en el que se

observa que el promedio de consumo de MS medido por el método directo para los 6 pastos fue 4,30 kg/día y el consumo estimado indirectamente usando la relación $MSC = MSF (\% IF) / (\% IA)$ fue de 3,71 kg/día.

Cuadro 10. Comparación entre MSC medida y MSC estimada por el método de relación, usando proteína no asimilable como indicador.

Pastos	Promedio consumido, kg/día		
	Método Directo	Estimado por relación	
		Sin corregir	Corregido ^(a)
Pará	3,56	2,93	3,95
Elefante	5,36	4,55	4,82
Alemán	4,68	3,72	4,34
Pangola	3,62	3,64	3,59
Guinea	4,80	3,90	4,67
Gamalote	3,75	3,54	3,75
Promedio total	4,30	3,71	4,19

(a) Corregido por la ecuación [16]

Comparando estos promedios mediante la prueba de "t" para observaciones pareadas, se encontró que las diferencias entre los valores medidos y los valores estimados fueron significativos ($P \leq 0,01$).

El análisis multidimensional generó la ecuación siguiente para predecir el consumo de la MS:

$$\hat{Y} = (0,0389)(X_1^{-0,291}) (X_2^{3,218}) (X_3^{0,909}) \quad [16]$$

en que:

Y = MSC verdadera

X₁ = % PF

X₂ = % PI

X₃ = MSF verdadera

Cuadro 11. Análisis de variancia para MSC, usando proteína no asimilable como indicador.

Fuente de variación	G.L.	CM	R ²	CV
Regresión/animales/pastos	3	0,3024**	0,83	
Desviación del modelo	66	0,0029		13,4%

** P ≤ 0,01

Haciendo una comparación de la ecuación [16] con la ecuación esperada $\hat{Y} = X_1 X_2^{-1} X_3$, que es equivalente a la relación [1], (Materiales y Métodos) se ve que tanto la constante $b_0 = 0,0389$ así como los coeficientes parciales de regresión no son los valores unitarios esperados. Sin embargo, según se puede ver en el Cuadro 11, la ecuación [16] se enmarca a los datos con un valor de $R^2 = 0,83$ y con un coeficiente de variabilidad para Sy_{x_i} de 13,4%.

Los datos de consumo de MS estimada por la relación [1] mejoraron notablemente cuando se los corrigió usando la ecuación [16].

Como se puede observar en el Cuadro 10 los promedios fueron de 4,30 y 4,19 kg/día para el consumo de IS medido por el método directo y estimado por la ecuación [16]. A estos promedios se los comparó mediante la prueba de "t" para observaciones pareadas, no habiéndose encontrado diferencias significativas. En contraste, la prueba de "t" mostró diferencias significativas ($P \leq 0,01$) entre estos mismos valores sin corregir por la ecuación [16] y los valores medidos directamente.

Al ampliar la estratificación de las fuentes de variabilidad para incluir edades de pastos bajó la predicción a $r^2 = 0,78$. Al igual que en el caso de los cromógenos, en esta ampliación de la estratificación no fue posible utilizar el modelo [7] usado para desarrollar la ecuación [16] por falta de grados de libertad para el error (desviación del modelo).

La ecuación generada por la regresión dentro de animales/pastos/edades fue la siguiente:

$$\hat{Y} = 0,127 + 1,122 X \quad [17]$$

en que:

$$Y = \text{MSC verdadera}$$

$$X = \text{MSF} \frac{\% \text{ PF}}{\% \text{ PI}}$$

A pesar de que el coeficiente $r^2 = 0,78$ de la ecuación [17] fue menor que $R^2 = 0,83$ para la ecuación [16], la ecuación [17] se aproxima más a la ecuación esperada, de $Y = X$. Se nota que los valores $a = 0,127$ y $b = 1,122$ se aproximan a los valores $a = 0$ y $b = 1$ esperados.

Los coeficientes de determinación estimados usando el modelo [3] para cada pasto en forma independiente, se presentan a continuación:

Cuadro 12. Valores de r^2 para las ecuaciones de predicción de cada forraje, usando proteína no asimilable como indicador.

Pastos	r^2
Pará	0,49
Elefante	0,78
Alemán	0,78
Pangola	0,76
Guinea	0,63
Gamalote	0,59

La proteína del alimento es asimilada en valores constantes y proporcional a su concentración en los alimentos (18). El 5-7 por ciento de la proteína ingerida constituye la fracción no asimilable o "indigestible" y que es la que se usa como sustancia indicadora en pruebas de consumo y asimilación. En la eliminación fecal, a este residuo se agrega el nitrógeno de origen metabólico, que es excretado en cantidades proporcionales al consumo de MS (3, 52, 57). Gallup y Bring (18), informan que por cada 100 g de MSC de forraje se excreta de 0,661 a 0,824 g de nitrógeno metabólico. Estos datos

concuerdan con otros autores (47, 59) que además informan que el nitrógeno metabólico produce un incremento del 10,6 a 20,8 por ciento en la estimación del N fecal. Los alimentos con altos niveles de celulosa producen una mayor excreción de nitrógeno metabólico (45, 47). Estos factores pueden ser considerados como variables continuas que afectan la precisión del método. Además, existen otras variables que pueden considerarse como discontinuas y que también tienen su influencia en el método. En este último grupo están las especies de pastos y las variaciones de estas de acuerdo a la época del año y estado vegetativo de la planta (3, 57). La excreción del nitrógeno metabólico varía con cada especie animal, edad, tamaño, sexo y con diferentes condiciones fisiológicas de los animales o por efecto del parasitismo (2, 6, 59). También corresponden al grupo de variables discontinuas las variaciones introducidas por los errores de laboratorio. En consecuencia, para mejorar la precisión en la estimación de la MSC usando proteína no asimilable será necesario incluir en los modelos [3] y [7] otras variables adicionales. A pesar de que el enfoque dado al modelo ha sido el de "relación", la ecuación [6] de Holter y Reid (23) usada para predecir la concentración de la proteína no asimilable en las heces, es empírica. Por tal razón, el uso de las ecuaciones [16] y [17] debe limitarse a situaciones semejantes a las del presente experimento.

4.3.2. Método de Indices fecales

El consumo de la MS promedio para las seis especies de pastos medido por el método directo y el consumo de MS estimado indirecta-

mente por el método de Índices fecales, se presenta en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Comparación entre MSC medida y MSC estimada por el método de Índices fecales, usando proteína no asimilable como indicador.

	Método directo	Métodos de Índices fecales	
		Función lineal	Función logarítmica
Promedio consumo kg/día	4,30	4,28 ^(a)	4,23 ^(b)

(a) Ajustadas con la ecuación lineal [8]

(b) Ajustadas con la ecuación logarítmica [9]

Como se observa en el Cuadro 13 el promedio de consumo de MS medida en forma directa fue de 4,30 kg/día. Los promedios obtenidos en forma indirecta usando el modelo lineal [8] fue de 4,28 kg/día y 4,23 kg/día, usando el modelo logarítmico [9].

Cuadro 14. Análisis de variancia para MSC, usando el método de índices fecales con proteína no asimilable como indicador. Modelo lineal.

Fuente de variación	G.L.	CM	R ²	CV
Regresión/animales/pastos	4	21,04**	0,83	
Desviación del modelo	62	0,38		14,3%

** $P \leq 0,01$

Con el modelo lineal, el análisis de multivariancia generó la siguiente ecuación [18] para predecir la MSC:

$$\hat{Y} = - 1,05 + 0,00927 (X_1) - 0,114 (X_2) + 1,855 (X_3) + 0,198 (X_4) \quad [18]$$

en que:

$$Y = \text{MSC verdadera}$$

$$X_1 = P_{\text{kg}}^{0,70}$$

$$X_2 = \% \text{ PF}$$

$$X_3 = \text{MSF verdadera}$$

$$X_4 = \% \text{ PC}$$

En el Cuadro 14 se observa que la ecuación [18] se ajusta a los datos con un coeficiente de determinación de $R^2 = 0,83$ y un coeficiente de variabilidad para Sy_{x_1} de 14,3%.

Cuadro 15. Análisis de variancia para MSC, usando el método de Índices fecales con proteína no asimilable como indicador. Modelo logarítmico.

Fuente de variación	G.L.	CM	R^2	CV
Regresión/animales/pastos	4	0,2313**	0,84	
Desviación del modelo	62	0,0027		13,5%

** $P \leq 0,01$

Con el modelo logarítmico el análisis multidimensional generó la siguiente ecuación para la predicción de MSC:

$$\hat{Y} = (0,692) (X_1^{0,0887}) (X_2^{-0,232}) (X_3^{0,808}) (X_4^{0,524}) \quad [19]$$

en que:

Y = MSC verdadera

X₁ = Peso del animal, kg

X₂ = % PF

X₃ = MSF verdadera

X₄ = % PC

Según se puede ver en el Cuadro 15 la ecuación [19] tiene un coeficiente de determinación de $R^2 = 0,84$, con un coeficiente de variabilidad para Sy_{x_i} de 13,5%.

Estimando consumo de MS de pastos de zonas templadas y usando proteína no asimilable en técnicas de índices fecales, Felds et al. (17) encontraron coeficientes de determinación de $R^2 = 0,90, 0,92, 0,98$ y $0,86$ para sus diferentes ecuaciones empíricas. Kennedy et al. (32), informan coeficientes de variabilidad entre 7,7 y 10,6% en el desarrollo de sus ecuaciones. Estos valores, al igual que en el método de los cromógenos, indican mayor precisión que la encontrada en el presente experimento. Minsson (46), utilizando la proteína no asimilable como indicador en técnicas de índices fecales reporta haber encontrado errores de considerable magnitud en sus ecuaciones de predicción. Sin embargo, a pesar de que los resultados que utilizan la proteína no asimilable como indicador difieren de un laboratorio a otro, el método es usado con frecuencia en la evaluación de forrajes

mediante el desarrollo de ecuaciones locales (32, 67) y recientemente con mayor énfasis. Una de sus principales ventajas radica en la facilidad de análisis en el laboratorio.

No se observa diferencia al comparar la precisión de la predicción que se puede obtener con el método de relación y con el método de Índices fecales (Cuadro 16).

Cuadro 16. Coeficientes de determinación y variabilidad de la proteína no asimilable usada como indicador en Técnicas de relación e Índices fecales.

Métodos	R ²	CV
Métodos de relación	0,83	13,4%
Método de Índices fecales		
Modelo lineal	0,83	14,0%
Modelo logarítmico	0,83	13,5%

Para el caso de la proteína no asimilable, los dos enfoques tienen igual grado de empirismo. El modelo que se utilizó para generar la ecuación [19] es más semejante al modelo que se utilizó para generar la ecuación [16] que el que generó la ecuación [18]. Comparando la ecuación [16] con la ecuación [19] se observa que los coeficientes de regresión correspondientes a las variables proteína fecal y MSF son muy parecidos. Por lo expuesto, parece que cualquiera de las tres ecuaciones puede usarse con igual precisión y también con los mismos riesgos.

4.4. Comparación entre cromógenos y proteína no asimilable usados como indicadores internos para medir consumo de MS

Las estimaciones de consumo de MS con seis especies de pastos tropicales usando cromógenos y proteína no asimilable como indicadores internos en Técnicas de relación e Índices fecales, se resumen a continuación.

En el Cuadro 17 se observa que la precisión conseguida con los dos indicadores es semejante, tanto para la Técnica de relación como para Índices fecales. Atendiendo a los resultados del segundo experimento, los cromógenos como indicador interno serían los más recomendables pues pueden usarse en Técnicas de relación para predecir el consumo de MS de los forrajes, sin ninguna corrección para la relación [1]. Además, la metodología para la determinación de cromógenos, con la modificación introducida según el Apéndice 1 resulta ser relativamente fácil y posible en cualquier laboratorio equipado para análisis proximal. En el caso de la proteína no asimilable, podría recomendarse su uso por la facilidad de su análisis en laboratorio. Sin embargo resulta indispensable el desarrollo de ecuaciones de regresión locales.

Finalmente la Técnica de relación es la más conveniente, pues se fundamenta en el razonamiento teórico, en contraste con las técnicas de Índices fecales que implican el uso de ecuaciones empíricas. La Técnica de relación puede utilizarse sin peligro de que coeficientes desarrollados en una zona sean inadecuados para otras.

Cuadro 17. Comparación entre los cromógenos y la proteína no asimilable usados como indicadores para estimar consumo de MS en Técnicas de relación e Índices fecales.

		Métodos indirectos							
		C r o m ó g e n o s				Proteína no asimilable			
Método directo		Relación		Índices fecales		Relación		Índices fecales	
		Sin corregir	Corregido	Modelo lineal	Modelo logarítmico	Sin corregir	Corregido	Modelo lineal	Modelo logarítmico
MSC, kg/día	4,30	4,07	4,23	4,30	4,29	3,71	4,19	4,28	4,23
R ²			0,84	0,86	0,84		0,83	0,83	0,83
CV			13,0%	11,6%	13,0%		13,4%	14,0%	13,5%

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir lo siguiente:

1. Es posible estimar el consumo de MS usando cromógenos como indicador, con la relación $MSC = MSF (\% IF) / (\% IA)$ y sin necesidad de recurrir a los ajustes con las ecuaciones de regresión. Por consiguiente, constituyen el indicador más adecuado para estimar MSC.
2. Es posible mejorar la precisión de la estimación del consumo de MS por la relación $MSC = MSF (\% IF) / (\% IA)$ mediante factores de corrección desarrollados con ecuaciones de regresión. La aplicación de estas ecuaciones están restringidas a las condiciones experimentales en que fueron desarrolladas.
3. La proteína no asimilable puede utilizarse como indicador para estimar el consumo de MS únicamente mediante el desarrollo de ecuaciones de regresión de aplicación restringida a las condiciones experimentales en que fueron desarrolladas.
4. Se recomienda hacer la extracción de los pigmentos de pastos y haces y muestras secas por destilación continua en circuito cerrado usando un equipo de reflujo.
5. Se recomienda continuar los estudios sobre el efecto del paso de los cromógenos por el tracto digestivo, los efectos del método de laboratorio sobre la recuperación aparente de estos últimos y sobre técnicas de muestreo en el campo.

6. RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, en Turrialba, Costa Rica. Los objetivos fueron evaluar y comparar el óxido crómico, cromógenos y proteína no asimilable como indicadores para determinar el consumo de forrajes.

En el primer experimento se realizaron estimaciones de consumo y asimilación de forrajes por el método de colección total y por los métodos indirectos usando como indicadores el óxido crómico, cromógenos y proteína no asimilable. Se usaron 4 novillos con pesos aproximados de 300 kg y pasto Pangola (Digitaria decumbens), replicándose las pruebas 4 veces. Además, se realizaron 324 observaciones para investigar el efecto sobre la recuperación aparente de cromógenos de siete longitudes de onda entre 400 y 430 m μ y tiempo de reposo de los extractos cromogénicos entre 0 y 48 horas. En el segundo experimento se realizaron igualmente pruebas de consumo y asimilación por el método de colección total y por los métodos indirectos usando como indicadores cromógenos y proteína no asimilable. Se utilizaron 72 animales con pesos entre 150-450 kg con pastos: Pará (Brachiaria mítica), Elefante (Pennisetum purpureum), Pangola (Digitaria decumbens), Guinea (Panicum maximum), Alemán (Echinochloa polystachia) y Gamalote (Paspalum fasciculatum). El forraje fue ofrecido ad libitum y a 4, 8 y 12 semanas de edad de corte.

En el primer experimento se encontró que la producción fecal estimada (MSFE) con la relación $MSFE = IC/\% IF$ en que IC = Indicador

consumido y IF = Indicador en las heces, usando óxido crómico como indicador, no era significativamente diferente de la producción fecal medida (MSFM). La precisión de predicción de la ecuación $MSFM = -0,020 + 0,899 MSFE$ fue de $r^2 = 0,83$. Se encontró significancia ($P \leq 0,01$) del efecto de longitud de onda (λ) y tiempo de reposo (h) sobre la recuperación aparente de los cromógenos, siendo posible corregir los resultados mediante la ecuación ($R^2 = 0,93$): $MSCM(UFC)/MSFM(UFF) = 18,3 - 0,0757 \lambda + 0,0171h + 0,000084 \lambda^2 - 0,000078 h^2 - 0,000049 \lambda h$, en que: MSCM = Materia seca consumida medida UFC = Unidades de feofitina consumida y UFF = Unidades de feofitina fecal. Además, se encontró coeficientes de variabilidad de 18,4, 14,3 y 12,3% para los efectos de animales, laboratorio y pastos respectivamente, sobre la recuperación aparente de los cromógenos.

En el segundo experimento se encontró que el consumo de Materia seca estimada (MSCE) con cromógenos no fue significativamente diferente a MSCM tanto usando la relación: $MSCE = MSFM (\% IF/\% IA)$ como con la ecuación de predicción: $MSCM = (3,28) (\% IF^{0,430}) (\% IA^{-0,147}) (MSFM^{0,942})$. El valor de R^2 de esta ecuación obtenida con animales/pastos, fue de 0,84. Cuando se amplió la estratificación a animales/edades/pastos se generó la ecuación $MSCM = 0,454 + 0,942 MSFM(UFF/UFC)$ ($r^2 = 0,87$). Usando la proteína no asimilable como indicador al comparar la MSCE con MSCM sí se encontró diferencias significativas ($P \leq 0,01$). Al corregir la MSCE con la ecuación: $MSCM = (0,0389) (\% IF^{-0,291}) (\% PI^{3,218}) (MSFM^{0,909})$ las diferencias ya no fueron significativas siendo el coeficiente de determinación (animales/pastos)

$R^2 = 0,83$. Ampliando la estratificación a animales/edades/pastos se obtuvo la ecuación $MSC = 0,127 + 1,122 \text{ MSFM } (\% \text{ PF}/\% \text{ PI})$ ($r^2 = 0,78$) en que: PF = proteína fecal y PI = Proteína indigestible. Las ecuaciones empíricas generadas por el método de índices fecales usando los mismos indicadores para predecir MSC, no fueron significativamente superiores a las ecuaciones del método de relación. Se concluyó que la utilización del óxido crómico y de los cromógenos en técnicas de relación para estimar indirectamente la producción fecal y el consumo de forrajes respectivamente, era suficientemente precisa para recomendar su utilización sin necesidad de ecuaciones empíricas; estas últimas utilizables sólo bajo las mismas condiciones del presente estudio. En contraste, la utilización de la proteína no asimilable como indicador es sólo posible mediante el uso de ecuaciones empíricas.

6a. SUMMARY

This study was conducted at the Inter-American Institute of Agricultural Sciences of the OAS, Turrialba, Costa Rica. The objective was to compare chromic oxide, chromogens and indigestible protein as tracers for estimating the voluntary intake of tropical pastures by cattle.

The first experiment consisted of estimating the voluntary intake of forages by indirect methods, using chromic oxide and chromogens as tracers, and comparing the results with those obtained by the total collection method. Four steers, approximately 300 Kg liveweight were given Pangola grass (Digitaria decumbens) in 4 replications. In addition, 324 spectrophotometer observations were made to investigate the effect of the length of resting time of the chromogen extract, 0 to 48 hours, and wave length, using 400 to 430 m μ on the results of apparent chromogen recovery. The second experiment consisted of the same tests using chromogens and indigestible protein as tracers. Seventy-two animales weighing 150 to 450 Kg were fed Para grass (Brachiaria mutica), Guinea grass (Panicum maximum), Elephant grass (Pennisetum purpureum), German grass (Echinochloa polystachia), Pangola grass (Digitaria decumbens) and Gamalote grass (Paspalum fasciculatum). Forages were 4, 8 and 12 weeks of age and were offered ad libitum to the animals.

In the first experiment it was found that the estimated fecal production (EDMF) calculated according to the relation $EDMF = IC / \% IF$ (where IC = tracer consumed and IF = tracer in the feces, the

indicator being chromic oxide) was not significantly different from the actual weighted fecal production (MDMF). The equation $MDMF = -0.020 + 0.899 EDMF$ resulted in sufficient precision to produce an r^2 value of 0.83. A significant effect ($P \leq 0.01$) was observed for wave length used (λ) and resting time of the sample (h) on the apparent chromogens recovery. Thus, it was possible to correct the results by means of the equation: $MDMC (UPC)/MDMF(UPF) = 18.3 - 0.0757 \lambda + 0.0171h + 0.000084 \lambda^2 - 0.000078 h^2 - 0.000049 \lambda h$, where MDMC = Measured Dry Matter Consumed, UPC = Units of pheofitine consumed, MDMF = Measured dry matter in the feces, and UPF = Units of pheofitine in the feces. Using this equation, the corresponding coefficient of determination in R^2 was 0.93. Furthermore, coefficients of variability found were 18.4, 14.3 and 12.3% for the effects of animals, laboratory, and pastures, respectively, when measured as apparent recovery of chromogens.

In the second experiment it was found that dry matter consumed (EDMC) as estimated with chromogens using the relation: $EDMC = MDMF \%IF/\%IA$ and using the prediction equation: $MDMC = (3.28) (\% IF^{0.430}) (\% IA^{-0.147}) (MDMF^{0.942})$ was not significantly different from results obtained using the total collection methods (MDMC). The value of R^2 of this equation with animals/pastures was 0.84. When a more complete classification of animals/cutting age/forages was used, the equation became $MDMC = 0.454 + 0.942 MDMF(UPF/UPC)$.

When indigestible protein was used to compare the EDMC with MDMC a significant difference between this two terms was noted

($P \leq 0.01$). However, after correcting EDMC with the equation $MDMC = (0.0389) (\% IP^{-0.291}) (\% IP^{3.218}) (MDMF^{0.909})$, the differences were not significant. Furthermore, the coefficient of determination, on the basis of animals/pastures, was $R^2 0.83$. Taking into account animals/ages/pasture it was found that the following equation $EDMC = 0.1271 + 1.1221 MDMF \% FP/\% IP$ (when $FP =$ fecal protein and $IP =$ indigestible protein) was appropriate and resulted on $r^2 = 0.78$.

It was concluded that the chromogen-chromic oxide method to estimate indirectly the fecal production and forage consumption using the relation: $EDMC = Cr_2O_3(U PF)/\% Cr_2O_3(U PC)$ had sufficient accuracy to recommend its use without the need of empirical equations. In contrast, the use of indigestible protein as a tracer is useful only by means of empirical equations.

7. LITERATURA CITADA

1. ARNOLD, G. W. y DUDZINGSKI, M. L. The use of fecal nitrogen as an index for estimating the consumption of herbage by grazing animals. *Journal of Agricultural Science* 61(1): 61(1):33-43. 1963.
2. _____. Studies on the diet of the grazing animals. II. The effect of physiological status in ewes and pasture availability on herbage intake. *Australian Journal of Agricultural Research* 18(2):349-359. 1967.
3. _____. Empleo de técnicas in vitro en asociación con técnicas de muestreo para medir la digestibilidad y el consumo de forrajes bajo pastoreo. In Paladines, O., ed. Métodos in vitro para determinar el valor nutritivo de los forrajes. Montevideo, IICA, 1967. pp. 61-100.
4. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 9th. ed. Washington, D. C., 1960. 332 p.
5. BARNICOAT, C. R. Estimation of apparent digestibility coefficient by means of an inert "reference substance". *New Zealand Journal of Science and Technology* 27:202-212. 1945.
6. BLAXTER, K. L. y MITCHELL, H. H. The factorization of the protein requirement of ruminants and of the protein values of feeds, with particular reference to the significance of the metabolic fecal nitrogens. *Journal of Animal Science* 7:351-371. 1948.
7. _____ y WILSON, R. S. The voluntary intake of roughages by steers. *Animal Production* 4(3):351-358. 1962.
8. BRISSON, G. J. Indicator method for estimating amount of forage consumed by grazing animals. In *International Grassland Congress, 8th., Reading, 1960. Proceedings. Readings*, Alden Press. 1960. pp. 435-438.
9. _____ y HATINA, G. Q. A methods for the extraction of pigments (chromogens from feces of cattle and sheep). *Canadian Journal of Animal Science* 37(2):136-142. 1947.
10. COMMONWEALTH BUREAU OF PASTURE AND FIELD CROPS. Research techniques in use at the Grassland Research Institute. *Bulletin* nº 45. 1961. 168 p.

11. COOK, C. W. y HARRIS, L. E. A comparison of the lignin ratio technique and the chromogen methods of determining digestibility and forage consumption of desert range plants by sheep. *Journal of Animal Science* 10(3):365-573. 1951.
12. COWLISHAW, S. T. The effect of sampling cages on the yields of herbage. *Journal of the British Grassland Society* 6(1): 179-182. 1951.
13. CZARNOCKI, J., SIBBALD, I. R. y EVANS, E. V. The determination of chromic oxide in samples of feed and excreta by acid digestion and spectrophotometry. *Canadian Journal of Animal Science* 41(4):167-179. 1961.
14. DAVIS, R. E., MILLER, C. O. y LINDHALL, I. L. Apparent digestibility by sheep of lignin in pea and lima-bean vines. *Journal of Agricultural Research* 47(10):285-288. 1947.
15. DEIJS, W. B. y BOSMAN, M. S. Plants pigments in digestion trial studies. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*. 74:1207-1216. 1955. (Original no consultado, compendiado en *Nutrition Abstract and Reviews* 26(2):322-323. 1956).
16. DRUGE, E. y WILLCOX, J. S. The application of modified procedures in digestibility studies. *Empire Journal of Experiment Agriculture* 17(67):188-191. 1949.
17. FIELDS, H. E., MOIR, R. J. y ROSSITER, R. C. Herbage intake of grazing sheep in South-Western Australia. *Australian Journal of Agricultural Research* 10(2):237-247. 1959
18. GALLUP, W. D. y BRIGGS, H. M. The apparent digestibility of fraire hay of variable protein content, with some observations of fecal nitrogen excretion by steers in relation by steers in relation dry matter intake. *Journal of Animal Science* 7(1):110-116. 1948.
19. GREENHALDG, J. F. y CORBETT, J. L. The indirect estimation of the digestibility of pasture herbage. I. Nitrogen and chromogen as fecal index substances. *Journal of Agricultural Sciences* 55(3):371-376. 1960.
20. CUARROCHENA, R. Efecto de la estabulación y del alimento concentrado en el consumo de pasto por vacas lecheras en pastoreo. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1969. 42 p.
21. HARDISON, W. A., ENGEL, R. W. y LINKOUS, W. N. Fecal chromic oxide concentration in 12 dairy cows as related to time and frequency of administration and feeding schedule. *Journal of Nutrition* 58(1):11-17. 1956.

22. HARKESS, H. D. Studies in herbage digestibility. *Journal of the British Grassland Society* 18(1):62-68. 1963.
23. HOLTER, A. J. y REID, J. T. Relationship between the concentration of crude protein and apparently digestible protein in forages. *Journal of Animal Science* 18(3):1339-1348. 1959.
24. IRVIN, H. M., WISEMAN, H. G., SHAW, J. C. y MOORE, L. A. The role of plant pigments in digestion trial studies. *Journal of Animal Science* 12(3):541-551. 1963.
25. ITURBIDE, A. Evaluación del sistema cromogeno-óxido crómico para estimar consumo y digestibilidad de forrajes en pastoreo directo. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1965. 135 p.
26. _____ y BATEMAN, J. Método para la determinación de feofitina en extractos cromogénicos de heces y pastos. *Turrialba (Costa Rica)* 17(1):91-93. 1967.
27. _____ y BATEMAN, J. Evaluación de los factores que influyen en la precisión de la técnica de los pigmentos vegetales o cromógenos para estimar digestibilidad de forrajes. *Turrialba (Costa Rica)* 18(2):101-109. 1968.
28. JONES, L. H. y HANDRECK, K. A. The relation between the silica content of the diet and excretion of silica by sheep. *Journal of Agricultural Science* 65:129-134. 1965.
29. JUKO, C. D., BREDON, R. M. y MARSHALL, B. The nutrition of the zebú cattle. II. The techniques of digestibility trials with special reference to sampling preservation and drying of feces. *Journal of Agricultural Science* 56(1):93-98. 1961.
30. KANE, E. A. y JACOBSON, W. C. The effect of light on optical density of extracts of fecal pigments in digestibility studies. *Journal of Dairy Science* 38(5):62. 1955.
31. _____, JACOBSON, W. C. y MOORE, L. A. Diurnal variation in the excretion of Cr_2O_3 and lignin. *Journal of Nutrition* 47(2):263-273. 1952.
32. KENEDY, W. K., CARTER, A. H. y LANCASTER, R. J. Comparison of faecal pigments and faecal nitrogens as digestibility indicators in grazing cattle studies. *New Zealand Journal Agricultural Research* 2:627-638. 1959.

33. KING, W. K. y MOORE, W. Density and size as factors affecting passage rate of ingesta in the bovine and human digestive tracts. *Journal of Dairy Science* 40(5):528-536. 1957.
34. LAMBOURNE, L. J. Measurement of feed intake of grazing sheep. II. The estimation of faeces output using markers. *Journal of Agricultural Science* 48(4):415-425. 1957.
35. _____ y READON, T. F. The use of chromic oxide and faecal nitrogen concentration for estimating the pasture intake of merino wethers. *Australian Journal of Agricultural Research* 14(2):257-271. 1963.
36. _____ y READON, T. F. The use of chromic oxide to estimate the faecal output of merinos. *Australian Journal of Agricultural Research* 14(2):239-256. 1963.
37. LANCASTER, R. J. The measurements of feed intake by grazing cattle and sheep. I. A method of calculating the digestibility of pasture based on the nitrogen content of faeces derived from the pasture. *New Zealand Journal of Science and Technology* 31(1):31-38. 1949.
38. LANGLANDS, J. P., CORBETT, J. L., McDONALD, I. y REID, G. W. Estimation of the faeces output of grazing animals from the concentration of chromium sesquioxide in a sample of faeces. 2. Comparison of estimates from samples taken at fixed times of day with estimates from samples collected from the sward. *British Journal of Nutrition* 17(2):219-221. 1963.
39. _____, CORBETT, J. L. y McDONALD, I. The indirect estimation of the digestibility of pasture herbage. III. Regression of digestibility on faecal nitrogen concentration: effects of species and individuality of animals and the method of determining digestibility upon the relationship. *Journal of Agricultural Science* 61:221-226. 1963.
40. LINEHAN, P. A. Use of cage and mover-strip methods for measuring the forage consumed by grazing animals. In *International Grassland Congress, 6th, Pennsylvania, 1952. Proceedings. s.n.t. v. 2, pp. 1328-1333.*
41. LOUIS, S. Estimación del consumo y digestibilidad de forrajes tropicales en pastoreo directo. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1967. 58 p.

42. McMANUS, W. R. , DUDZINSKI, M. L. y ARNOLD, G. W. Prediction of herbage intake from nitrogen, copper, magnesium and silicon concentration in faeces. *Journal of Agricultural Science* 69(2):263-268. 1967.
43. MARTEN, G. C. y JORDAN, R. M. Pasture quality for sheep as estimated by chromogen vs nitrogen indicator. *Journal of Animal Science* 26(5):1165-1168. 1967.
44. MAYNARD, L. A. Nutrición animal. Traducido de la 3a. ed. por E. Escalona. México, D. F., UTEHA, 1955. 530 p.
45. MEYER, J. H. Influence of dietary fiber on metabolic and endogenous nitrogen excretion. *Journal of Nutrition* 58: 407-413. 1955.
46. MINSSON, D. J. The errors involved in the measurements of herbage consumption using indicator techniques. Ph.D. Thesis. University of Reading, England, 1958. 213 p. (Original no consultado citado por: Minsson, D. y Kemp, C. *Studies in the digestibility of gerbage. British of the Grassland Society* 16(1):76-79. 1961).
47. MITCHELL, H. H. Biological methods of measuring the protein value of feed. *Journal of Animal Science* 2:263-277. 1943.
48. NEVENS, W. B. A comparison of sampling procedure in making pasture yield determination. *Journal of Dairy Science* 28:171-185. 1945.
49. NOTTLE, M. C. Silica metabolism of the merino sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 17:175-182. 1966.
50. PETERSON, M. L., LOFGREEN, G. P. y MEYERS, J. H. A comparison of the chromogen and clipping methods for determining the consumption of dry matter on total digestible nutrient by beef steers on alfalfa pasture. *Agronomy Journal* 48:560.
51. RAYMOND, W. F. Studies in the digestibility of herbage. III. The use of fecal collection and chemical analysis in pasture studies (a) ratio and tracer methods. *Journal of the British Grassland Society* 8(4):301-314. 1953.
52. _____, KEMP, C. A., KEMP, A. W. y HARRIS, C. E. Studies in the digestibility of herbage. IV. The use of the faecal collection and chemical analysis in pasture studies (b) baecal index methods. *Journal of the British Grassland Society* 9(1):69-82. 1954.

53. RAYMOND, W. F. y MINSSON, D. J. The use of chromic oxide for estimating the faecal production of grazing animals. *Journal of the British Grassland Society* 10(1):282. 1955.
54. REID, J. T., WOOLFOLD, P. G., RICHARDS, C. R., KAUFMANN, R. W., LOOSLI, J. K., TURK, K. L., MILLER, J. I. y BLASER, R. E. A new indicator method for the determination of digestibility and consumption of forage by ruminants. *Journal of Dairy Science* 33(1):60-71. 1950.
55. _____, WOOLFOLD, P. G., HARDISON, W. A., MARTIN, C. M., BRUNDAGE, A. L. y KAUFMANN, R. W. A procedure for measuring the digestibility of pasture forage under grazing conditions. *Journal of Nutrition* 46(2):255-269. 1962.
56. _____, KENEDY, W. R., TURK, K. L., SLACK, S. T., TRIMBERGER, G. W. y MURPHY, R. P. Symposium of forage evaluation. I. What is forage quality from the animal standpoint? *Agronomy Journal* 51(4):213-216. 1959.
57. _____. El valor relativo de los resultados agronómicos y con animales en investigaciones sobre pastures. In Paladines, O., ed. Empleo de animales en las investigaciones sobre pasturas. In Paladines, O., ed. Empleo de animales en las investigaciones sobre pasturas. Montevideo, IICA, 1967. pp. 31-72.
58. SCAUT, A. La mesure de la consommation du betael au pasturage. Instituto National pour L'Etude Agronomique du Congo. Serie Scientifique nº 91. 86 p. (Original no consultado; citado por Iturbide, A. Evaluación del sistema cromógeno-óxido crómico para estimar consumo y digestibilidad de forrajes en pastoreo directo. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1965. 135 p.)
59. SCHNEIDER, B. H. Feeds of the world. Their digestibility and composition. Charleston, West Virginia, Jarret, 1947. 282 p.
60. SMART, W. W., SHERWOOD, W. F., MATRONE, G. y WISE, G. N. Pigments involved in the chromogen ration method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1(4):318-321. 1953.
61. SMITH, A. M. y REID, J. T. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of pasture herbage by grazing cows. *Journal of Dairy Science* 38(5):515-524. 1955.

62. SOWDEN, F. J. y DELOG, W. A.: Pasture studies (XXIX). Investigations on the lignin fraction of pasture herbage and the feces of ruminants. *Scientific Agriculture* 29(9):409-417. 1949.
63. SQUIBB, R. L., RIVERA, C. y JARQUIN, R. Comparison of chromogen methods with standard digestion trial for determining digestible nutrient content of kikuyo grass and ramie forage with sheep. *Journal Animal Science* 17(2):318-321. 1958.
64. TURRIZA E., L. Consumo por el ganado, digestibilidad y composición química de seis gramíneas tropicales. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1970. 35 p.
65. VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. *Journal of Animal Science* 26:119-128. 1967.
66. WILDT, E. Ueber die Verwendbarkeit animalischer protein-substanzen als Futtermittel für herbivoren. *Landw. Vers. Sta.* 20-21. 1874. (Original no consultado; citado por Schneider, B. H. et al. *Methods for determining consumption and digestibility of pasture forages*. Washington Agricultural Experiment Station. Technical Bulletin nº 16. 1955. 42 p.)
67. WITTKÉ, E. G. Uso del nitrógeno y cromógenos como índices fecales en combinación con el óxido crómico, para determinar el valor nutritivo de praderas en condiciones de pastoreo. Tesis Mag. Sc. Colonia, Uruguay, IICA, 1965. 128 p.
68. WOOLFOLD, P. G., RICHARD, C. R., KAUFMAN, R. W., MARTIN, C. M. y REID, J. T. A comparison of fecal nitrogen excretion rate, chromium oxide and chromogens methods for evaluating forages and roughages. *Journal of Dairy Science* 33(5): 385-386. 1950.

A P E N D I C E

DETERMINACION DE FEOFITINA

El método descrito a continuación modifica la técnica de extracción esquematizada por Iturbide y Bateman (25). El procedimiento es el siguiente:

1. Se pesó por duplicado 0,1 gramos de muestras de pasto y heces secadas al aire y molidos, a los mismos que se determinó el peso al vacío.
2. La extracción de los pigmentos se realizó por destilación continua en circuito cerrado, con acetona al 85% y ácido oxálico (850 ml de acetona, 150 ml de agua destilada y 3,78 gramos de ácido oxálico cristalizado), utilizando un equipo de reflujo "Walker". La extracción duró dos horas continuas (véase página siguiente).
3. El extracto se llevó a 100 ml. Se tomaron 10 ml y se transfirieron a un volumétrico de 50 ml, el cual se llevó también a volumen. Luego se dejó en reposo por 24 horas en oscuridad completa.
4. Las lecturas colorimétricas se hicieron a 415 mμ de longitud de onda, expresándose como unidades de feofitina por unidad de peso de materia orgánica.

En la Figura 2 se observa que la concentración residual de los pigmentos de pastos y heces disminuyeron hasta 0,1 en las lecturas de densidad óptica a las dos horas de extracción, razón por que se recomendó solamente dos horas de duración para la extracción de los pigmentos.

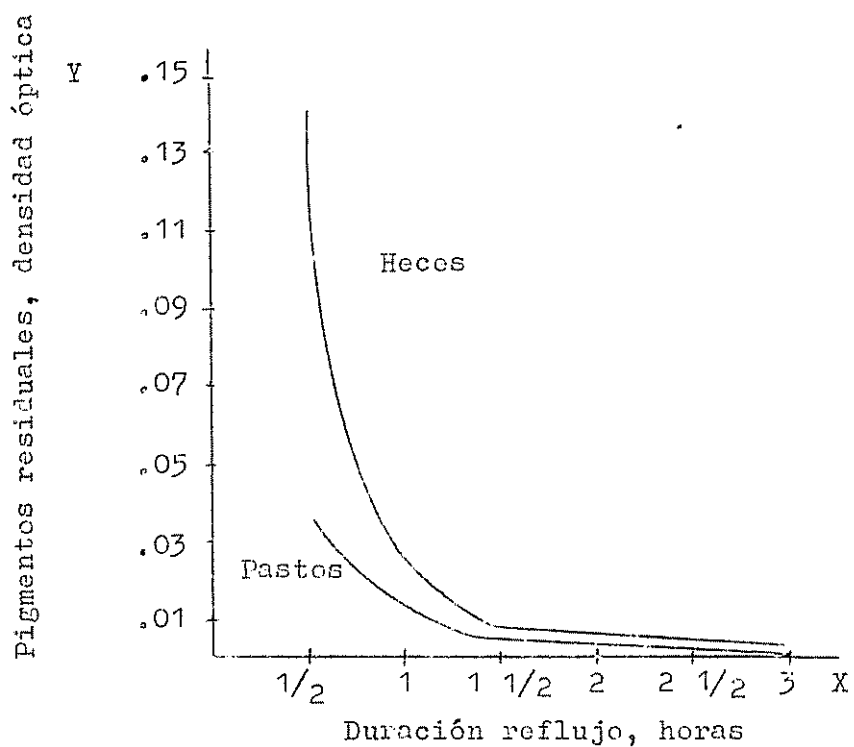


Figura 1. Concentración residual de pigmentos en muestras de pastos y heces sometidos a reflujo.

Cuadro 1. Análisis de multivariación para MSC, utilizando cromógenos como indicador.

Fuente de variación	G.L.	CM.	R ²	CV
Pastos	5	0,07196**		
Animales/pastos	66	0,01655	0,84 ^(a)	
Regresión/animales/ pastos	3	0,30736**		
Desviación del modelo	63	0,00271		13,0%
Total	71		0,63 ^(b)	

** = $P \leq 0,01$

(a) Con relación a la sub-clase

(b) Con relación al total

Cuadro 2. Análisis de multivariación para MSC, usando el método de Índices fecales con cromógenos como indicador. Modelo Lineal.

Fuente de variación	G.L.	CM	R ²	CV
Pastos	5	6,77**		
Animales/pastos	66	1,64	0,86 ^(a)	
Regresión/animales/ Pastos	4	23,18**		
Desviación del modelo	62	0,25		11,6%
Total	71		0,65 ^(b)	

** $P \leq 0,01$

(a) Con relación a la sub-clase

(b) Con relación al total

Cuadro 3. Análisis de multivariación para MSC, usando el método de Índices fecales con cromógenos como indicador. Modelo logarítmico.

Fuente de variación	G.L.	CM	R ²	CV
Pastos	5	0,0719**		
Animales/pastos	66	0,0166	0,84 ^(a)	
Regresión/Animales/ Pastos	4	0,2313**		
Desviación del modelo	62	0,0027		13,0%
Total	71		0,64 ^(b)	

** $P \leq 0,01$

(a) Con relación a la sub-clase

(b) Con relación al total

Cuadro 4. Análisis de multivariación para MSC, utilizando proteína no asimilable como indicador.

Fuente de variación	G.L.	CM	R ²	CV
Pastos	5	0,0720**		
Animales/pastos	66	0,0165	0,83 ^(a)	
Regresión/Animales/ Pastos	3	0,3024**		
Desviación del modelo	63	0,0029		13,4%
Total	71		0,62 ^(b)	

** $P \leq 0,01$

(a) Con relación a la sub-clase

(b) Con relación al total

Cuadro 5. Análisis de multivariancia para MSC, usando el método de Índices fecales con proteína no asimilable como indicador. Modelo lineal.

Fuente de variación	G.L.	CM	R ²	CV
Pastos	5	6,77**		
Animales/pastos	66	1,64	0,83 ^(a)	
Regresión/animales/ pastos	4	21,04**		
Desviación del modelo	62	0,38		14,3%
Total	71		0,63 ^(b)	

** $P \leq 0,01$

(a) Con relación a la sub-clase

(b) Con relación al total

Cuadro 6. Análisis de multivariancia para MSC, usando el método de Índices fecales con proteína no asimilable como indicador. Modelo logarítmico.

Fuente de variación	G.L.	CM	R ²	CV
Pastos	5	0,0719**		
Animales/pastos	66	0,0166	0,84 ^(a)	
Regresión/animales/ pastos	4	0,2313**		
Desviación del modelo	62	0,0027		13,5%
Total	71		0,64 ^(b)	

** $P \leq 0,01$

(a) Con relación a la sub-clase

(b) Con relación al total