

COMPARACIÓN DE CUATRO TÉCNICAS PARA LA ESTIMACIÓN DEL CONSUMO DE FORRAJE POR OVINOS EN UNA PASTURA DE *Panicum coloratum* L.

Comparison of four techniques to estimate forage intake by rams grazing a *Panicum coloratum* L. pasture

Carlos M. Ferri^{1*}, Néstor P. Stritzler², Miguel A. Brizuela³ y Horacio J. Pagella¹

ABSTRACT

The objective was to compare measurements of animal forage intake obtained by the use of four techniques: pre- and post-grazing difference in standing forage mass, total daily faeces collection in combination with diet digestibility *in vitro*, total daily faeces collection in combination with diet digestibility estimated by nitrogen faecal index, and *n*-alkane technique. The experiment was carried out on a stockpiled *Panicum coloratum* L. pasture during two growing seasons. The treatments for the first season comprised standing forage mass accumulated after mid-October, mid-January and mid-February mechanical harvest to 8-cm stubble. In the second season, the treatments arose from forage mass accumulated after mid-December, beginning of January and February cuts. Treatments were assigned at random to 0.5 ha plots in two replicates. The most closely correlated estimations of intake ($r = 0.83$; $P < 0.01$) were those obtained through total collection of feces and diet digestibility, the last one with estimated either by the technique *in vitro* or the fecal N index. The apparent overestimation of intake, by the *n*-alkane technique, might be a consequence of the bias produced by forage sampling. In general terms, the techniques used to estimate intake were responsive to treatment effect.

Key words: C₄ grass, fecal nitrogen, forage intake, *n*-alkanes.

¹ Universidad Nacional de La Pampa, Facultad de Agronomía, CC 300, L-6300, Santa Rosa, La Pampa, Argentina. E-mail: ferri@agro.unlpam.edu.ar *Autor para correspondencia.

² Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Anguil “Ing. Agr. Guillermo Covas”, CC 11, L-6326, Anguil, La Pampa, Argentina.

³ Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, CIC Bs. As., CC 276, B-7620, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Recibido: 9 abril 2007.

Aceptado: 15 junio 2007.

RESUMEN

El objetivo fue comparar el consumo animal estimado mediante cuatro técnicas: diferencia entre la biomasa de forraje medida por corte en pre- y postpastoreo, recolección total de heces combinada con digestibilidad *in vitro* de la dieta, recolección total de heces combinada con digestibilidad de la dieta estimada a partir del índice del N fecal, y método de los *n*-alcanos. La comparación se realizó durante dos estaciones de crecimiento en una pastura de *Panicum coloratum* L. diferida. En la primera estación de crecimiento los tratamientos se establecieron por acumulación del forraje producido, luego de un corte mecánico realizado a 8 cm de altura a mediados de octubre, de enero y de febrero. En la segunda estación, los tratamientos se generaron por la acumulación del forraje producido después de un corte realizado a mediados de diciembre, y principios de enero y febrero. Los tratamientos se asignaron al azar en parcelas de 0,5 ha con dos repeticiones. Las estimaciones del consumo correlacionadas más estrechamente entre sí ($r = 0,83$; $P < 0,01$) fueron las obtenidas a través de la producción total de heces combinada con la digestibilidad de la dieta determinada mediante la técnica *in vitro* o por el índice del N fecal. Aparentemente, la técnica de los *n*-alcanos sobreestimó el consumo de forraje, lo cual podría deberse a errores en el muestreo de la dieta. En términos generales, las técnicas empleadas para estimar el consumo fueron sensibles a los efectos del tratamiento.

Palabras clave: consumo de forraje, gramínea C₄, *n*-alcanos, nitrógeno fecal.

INTRODUCCIÓN

El consumo dietario es el factor de mayor importancia en la determinación de la producción animal (Lippke, 2002). Por esto, la estimación de la cantidad diaria de materia seca consumida por un animal es esencial para hacer inferencias nutricionales sobre el alimento y la posterior respuesta animal. En condiciones de pastoreo el consumo de forraje es de compleja cuantificación y en general las técnicas utilizadas presentan alguna limitación en términos de introducir errores (Mayes y Dove, 2000). La elección de la técnica dependerá de la disponibilidad de recursos, precisión, exactitud y tipo de estimación requerida (por ejemplo, evaluaciones individuales o grupales, de corto o largo plazo).

El consumo diario grupal puede estimarse a través de la diferencia entre la biomasa medida en pre- y postpastoreo (Coates y Penning, 2000). Esta técnica provee estimaciones confiables del consumo cuando se utilizan períodos de pastoreo cortos y se consume una proporción importante del forraje ofrecido (Macon *et al.*, 2003). Los principales inconvenientes son la subestimación del consumo por el crecimiento de la pastura y la variabilidad entre las determinaciones.

El procedimiento convencional utilizado para estimar el consumo diario individual es a partir de la relación entre la excreción diaria de heces (H) y la digestibilidad de la dieta (generalmente en términos de materia orgánica, DMO). El principal factor que limita la exactitud en la determinación de la DMO es la obtención de muestras representativas de la dieta de los animales (Lippke, 2002).

La utilización de la técnica *in vitro* para la estimación de la digestibilidad de la dieta, presenta la desventaja que asume un valor único de digestibilidad sin considerar la variación entre animales, el nivel de consumo y el estado fisiológico de los animales (Coates y Penning, 2000). Por otra parte, la técnica del índice fecal prescinde del muestreo de la dieta (Ferri *et al.*, 2003) y sólo involucra determinaciones químicas rutinarias. Sin embargo, presenta una serie de problemas relacionados con la extrapolación de las ecuaciones obtenidas en los ensayos de alimentación en confinamiento a las condiciones de pastoreo (Rymer, 2000). Estas relaciones, según Coates y Penning (2000), pueden ser modificadas tanto por factores relacionados con el animal (especie, estado fisiológico, carga parasitaria, nivel de consumo) como con el vegetal (especie, fracción morfológica, estación de crecimiento, fertilización nitrogenada).

Los *n*-alcanos presentes en las ceras de la membrana cuticular de las plantas, conjuntamente con la administración por vía oral de *n*-alcanos sintéticos, se pueden utilizar como marcadores para estimar el consumo individual de forraje (Lippke, 2002). La estimación del consumo mediante la utilización de pares de *n*-alcanos adyacentes (uno natural, con número impar de átomos de carbono, y otro dosificado, con número par de átomos de carbono) con un nivel similar de recuperación en heces permite anular el error introducido por la recuperación incompleta en heces. La medición del consumo con la técnica de los *n*-alcanos tiene las ventajas de que no requiere de estimaciones previas de la excreción diaria de heces ni de la digestibilidad de la dieta, pero sí de la obtención de muestras representativas de la dieta. Además, no es afectada por los factores inherentes al alimento y al animal, que podrían modificar la digestibilidad (Mayes y Dove, 2000).

En el presente estudio se evaluaron cuatro procedimientos para estimar el consumo de forraje de ovinos pastoreando forraje de *Panicum coloratum* cv. Verde sujeto a diferentes períodos de acumulación de forraje. El objetivo fue comparar las estimaciones de consumo de forraje obtenidas con cuatro técnicas e identificar las más ventajosas para determinar el consumo de forraje por ovinos en pastoreo. Las técnicas evaluadas fueron las siguientes: diferencia entre el forraje medido por corte en pre- y postpastoreo, recolección total de heces combinada con digestibilidad *in vitro* de la dieta ajustada mediante la ecuación

de Meijs *et al.* (1982), recolección total de heces combinada con digestibilidad de la dieta estimada a partir del índice del N fecal, y método de los *n*-alcanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó una pastura de *Panicum coloratum* cv. Verde, establecida en la primavera de 1994, en el Campo de Enseñanza de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa, La Pampa, Argentina (36°46' S, 64°16' O, 210 m.s.n.m.), cubriendo dos estaciones de crecimiento, 1996-1997 y 1997-1998.

Los tratamientos se generaron mediante diferentes períodos de acumulación de forraje (**Cuadro 1**). En la primera estación de crecimiento, éstos se establecieron permitiendo la acumulación de forraje hasta el cese del crecimiento por bajas temperaturas, luego de cosechas mecánicas a 8 cm de altura realizadas a mediados de octubre (T₁270), de enero (T₁175) y de febrero (T₁145). En la segunda estación los tratamientos se generaron luego de cosechas realizadas a mediados de diciembre (T₂215), principios de enero (T₂195) y de febrero (T₂165). El subíndice de cada tratamiento indica la estación de crecimiento, y el número siguiente la duración en días de cada período de acumulación de forraje contados desde el día de corte hasta el primer día del ensayo. Los tratamientos se asignaron al azar en parcelas de 0,5 ha con dos repeticiones. Se generaron seis diferentes extensiones de los períodos de acumulación en función de la duración de la estación de crecimiento de la especie en la región. Para cada tratamiento y repetición se utilizaron 22 sub-parcelas (franjas diarias), de las cuales 14 correspondieron al período de adaptación y ocho al período de medición. Los períodos de pastoreo comenzaron el 12 de julio de 1997 y 16 de julio de 1998.

El pastoreo se efectuó en franjas diarias con cinco ovinos machos sin castrar de la raza Pampinta, peso vivo (PV) inicial de $49,6 \pm 5,1$ kg en 1997, y $45,4 \pm 5,2$ kg en 1998, de los cuales tres portaban bolsas recolectoras de heces sujetas mediante arneses. Los animales se pesaron cada 7 días y el PV medio se utilizó para calcular el consumo individual por unidad de peso vivo metabólico ($PV^{0,75}$). La asignación de forraje se estableció en 40 g de MS kg^{-1} PV $día^{-1}$. Dicha asignación permitiría una eficiencia de cosecha de aproximadamente el 50%, según determinaciones realizadas en la misma pastura, bajo condiciones de acumulación del forraje producido desde fines de febrero (Ferri *et al.*, 2001). El área necesaria para proveer la asignación establecida para cada sub-parcela (rango: 29 a 60 m² en 1997 y 37 a 53 m² en 1998) se determinó el día anterior al inicio del pastoreo (pre-P), evaluando la disponibilidad de forraje a partir de tres cortes (1,0 m²) de biomasa a nivel del suelo. Para determinar el forraje residual (pospastoreo: pos-P) se realizaron tres mediciones localizadas en forma adyacente (apareadas) a las anteriores.

Análisis químico-biológico del forraje

Las muestras de forraje, correspondientes a pre- y pospastoreo, previo secado en estufa (55 °C, 72 h) y molido en molino Wiley (malla 1 mm), se agruparon tomando cantidades fijas en base a peso sobre el período de medición para obtener tres muestras compuestas por tratamiento y repetición. La materia seca se determinó a 105 °C por 48 h, y el contenido de ceniza se midió gravimétricamente luego de la ignición de la muestra en una mufla a 550 °C durante 12 h. La concentración de proteína bruta (PB; N x 6,25) se determinó por el procedimiento semi-micro Kjeldahl (Unidad de Digestión 2040 y Unidad de Destilación 1026, Tecator, Höganäs, Suecia) y las concentraciones de fibra en detergentes neutro (FDN) y ácido (FDA) y lignina en detergente ácido (LDA) por el procedimiento descrito por Van Soest y Robertson (1985). La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) se determinó de acuerdo a Alexander y McGowan (1966). Las muestras se incubaron a 39 °C por 72 h en una solución de saliva artificial y licor ruminal, seguido por un período adicional de 24 h en una solución de ácido clorhídrico y pepsina. El inóculo para el procedimiento se obtuvo de un novillo preparado con fistula de rumen y alimentado *ad libitum* con heno de alfalfa (*Medicago sativa* L.). Las estimaciones de DIVMO se corrigieron utilizando la relación de las digestibilidades *in vitro:in vivo* de un forraje estándar (forraje diferido de *P. coloratum* con una digestibilidad *in vivo* de la MS de 509 g kg⁻¹ MS).

Estimación del consumo

El consumo de materia orgánica (CMO) se estimó mediante métodos directos e indirectos. Se realizaron mediciones sobre la pastura (método directo) y evaluaciones indirectas de consumo mediante la técnica de recolección total de heces combinada con digestibilidad *in vitro* de la dieta ajustada mediante la ecuación de Meijs *et al.* (1982), recolección total de heces combinada con digestibilidad de la dieta estimada a partir del índice del N fecal, y por la utilización de *n*-alcanos (Mayes y Dove, 2000) como marcadores fecales internos y externos.

Método directo o por corte

El CMO, por el método directo, se estimó por diferencia entre el forraje medido por corte en pre-P y pos-P (Coates y Penning, 2000). La acumulación de forraje se desestimó dado que el período entre cortes fue de 1 día y que, además, el crecimiento de la pastura diferida es generalmente nulo en el período invernal.

Métodos indirectos

El CMO individual de los animales, en que se utilizó la técnica de recolección total de heces, se estimó a partir de la siguiente ecuación:

$$CMO = H / [1 - (DMO / 1000)] \quad [1]$$

donde, H es la excreción diaria de MO en las heces (g día^{-1}) y DMO (g kg^{-1} MS) es la digestibilidad aparente de la MO de la dieta. Las heces excretadas por animal se recolectaron y pesaron dos veces al día (08:00 y 17:30 h). Luego se tomaron muestras de 250 g que se sometieron a procesos de secado y molienda, iguales a los descritos para el forraje, para la posterior determinación de la concentración de MS, ceniza, N y *n*-alcanos. Las muestras correspondientes a cada animal fueron compuestas, para el período de medición, sobre la base de la cantidad total de MS excretada diariamente. Mientras que la DMO se estimó utilizando dos aproximaciones, a través de la técnica *in vitro* ($DMO_{in vitro}$) y por el índice del N fecal ($DMO_{N fecal}$).

In vitro

La digestibilidad de la dieta se estimó de acuerdo con la ecuación de Meijis *et al.* (1982) de la siguiente manera:

$$DMO_{in vitro} = [(Fpre \times DIVMOpre) - (Fpost \times DIVMOpost)] / (Fpre - Fpost) \quad [2]$$

donde, Fpre y Fpost representan la masa de forraje en pre- y pospastoreo, respectivamente, y DIVMOpre y DIVMOpost corresponden a las digestibilidades *in vitro* de la MO en pre- y pospastoreo, respectivamente.

Índice del N fecal

La relación, entre la concentración de N en la MO orgánica fecal y la DMO, esta determinada por la disminución en la cantidad de MO fecal excretada y por el aumento en la concentración de N en las heces con el aumento en la digestibilidad de la MO de la dieta (Lukas *et al.*, 2005). En consecuencia, a partir del valor de NTF (g kg^{-1} CMO) y la concentración de N en la MO de las heces (cNF; g kg^{-1} MO), la cantidad de MO del forraje que determinaría 1000 g de MO de heces sería $1000 \times \text{cNF} / \text{NTF}$ y la digestibilidad estaría dada por:

$$DMO_{N fecal} = \{[(1000 \times \text{cNF} / \text{NTF}) - 1000] / 1000 \times \text{cNF} / \text{NTF}\} \times 1000 = 1000 \times (1 - \text{NTF} / \text{cNF}) \quad [3]$$

donde el valor de NTF ($7,15 \text{ g kg}^{-1}$ CMO) se obtuvo a partir de Ferri *et al.* (2003).

N-alcanos

El CMO se estimó de acuerdo a la ecuación propuesta por Mayes *et al.* (1995):

$$CMO = (Dj \times Hi / Hj) / [Fi - (Fj \times Hi / Hj)] \quad [4]$$

donde, H_i y F_i corresponden a las concentraciones ($\text{mg kg}^{-1} \text{MO}$) de n -alcanos con número impar de átomos de carbono en heces y en forraje, respectivamente; H_j y F_j son las concentraciones ($\text{mg kg}^{-1} \text{MO}$) de n -alcanos con número par de átomos de carbono en heces y forraje ($\text{mg kg}^{-1} \text{MO}$), respectivamente, y D_j es la dosis de n -alcano ($n\text{-C}_{32}$; mg d^{-1}). Las estimaciones del CMO se obtuvieron a partir de la combinación de los pares $n\text{-C}_{31}:n\text{-C}_{32}$ y $n\text{-C}_{33}:n\text{-C}_{32}$.

Se utilizaron tres animales por tratamiento y repetición, dosificados dos veces al día (08:00 y 17:30 h) con un pellet conteniendo n -dotriacontano ($n\text{-C}_{32}$; 106 mg). Luego de suministrado el pellet, los animales se observaron por 10 min con el fin de verificar su ingestión. Los pellets se confeccionaron en el Macaulay Land Use Research Institute (MLURI), Aberdeen, Reino Unido. El proceso para determinar la concentración de n -alcanos en muestras de forraje, de heces y de pellets, involucró la extracción y el análisis (identificación y cuantificación) del extracto mediante cromatografía gaseosa. La extracción de los n -alcanos se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Mayes *et al.* (1986) y su análisis, mediante cromatografía gaseosa, se efectuó en el MLURI. La caracterización de los n -alcanos en el forraje fue descrita por Ferri *et al.* (2007).

Análisis estadístico

Los efectos de la estación de crecimiento y tratamiento sobre atributos químico-biológicos del forraje se evaluaron mediante análisis de la varianza a partir del modelo, $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \alpha_i(\beta_j) + \tau_k(\alpha_i) + \varepsilon_{ijk}$, donde μ es la media general, α , β y τ son los efectos de estación, repetición y tratamiento y ε_{ijk} es el término de error aleatorio de la sub-parcela. La comparación entre técnicas de estimación del consumo se realizó a partir del modelo, $Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \alpha_i(\beta_j) + \tau_k(\alpha_i) + \delta_l + \alpha_i \times \delta_l + \tau_k \times \delta_l(\alpha_i) + \varepsilon_{ijkl}$, donde μ es la media general, α , β , τ y δ son los efectos de estación, repetición, tratamiento y técnicas, y ε_{ijkl} es el término de error aleatorio de la sub-parcela. El efecto de estación se probó con $\alpha_i(\beta_j)$. La comparación de medias se realizó mediante test de Tukey ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización químico-biológica del forraje

El acortamiento en los períodos de acumulación de forraje determinó, en ambas estaciones de crecimiento, aumentos significativos ($P < 0,05$) en el contenido de PB y una leve disminución ($P < 0,05$) en el de FDN, mientras que el contenido de FDA no presentó variaciones ($P > 0,05$) (**Cuadro 2**). La DIVMO fue mayor ($P < 0,05$) para el período de acumulación intermedio (T_1175) en la estación de crecimiento 1996-1997,

mientras que en la siguiente (1997-1998) no se detectaron diferencias ($P > 0,05$) entre periodos de acumulación.

Comparación de las estimaciones de consumo de materia orgánica por diferentes técnicas

Las estimaciones medias de CMO en los tratamientos para cada técnica interaccionaron ($P = 0,0015$) con la estación de crecimiento (**Cuadro 3**). La media de CMO en la estación de crecimiento 1996-1997 obtenida mediante la técnica por corte fue mayor ($P < 0,05$) que la correspondiente a la recolección total de heces combinada con $DMO_{N\ fecal}$ y similar ($P > 0,05$), en ambas estaciones de crecimiento, con la recolección total de heces combinada con $DMO_{in\ vitro}$. Las medias obtenidas a partir de la recolección total de heces combinada con DMO, tanto para la técnica *in vitro* como para la del índice del N fecal, fueron similares ($P > 0,05$) en ambas estaciones. En la técnica de los *n*-alcanos utilizando los pares *n*-C₃₁:*n*-C₃₂ y *n*-C₃₃:*n*-C₃₂ las medias no difirieron ($P > 0,05$) en la estación de crecimiento 1996-1997, en la siguiente (1997-1998) la media para el par *n*-C₃₃:*n*-C₃₂ fue menor ($P < 0,05$). En las dos estaciones las medias de CMO fueron mayores ($P < 0,05$) para la técnica de los *n*-alcanos respecto a las otras técnicas evaluadas. Por otro lado, la interacción técnica x tratamiento no fue significativa ($P = 0,669$) y, en general, los valores medios de CMO obtenidos por las distintas técnicas fueron diferentes ($P < 0,05$; **Cuadro 3**), lo que sugiere que las técnicas utilizadas produjeron resultados absolutos muy diferentes pero similares en términos relativos.

La mayor diferencia encontrada entre técnicas para la estimación de CMO fue de 19,1 y 24,6 g kg⁻¹ PV^{0,75} día⁻¹ para las estaciones de crecimiento 1996-1997 y 1997-1998, respectivamente, mientras que, las diferencias debidas a los tratamientos fueron de 5,3 y 10,1 g kg⁻¹ PV^{0,75} día⁻¹ para ambas estaciones. En el presente trabajo todas las estimaciones de CMO se situaron por encima del valor de 36,9 g kg⁻¹ PV^{0,75} día⁻¹, estimado en confinamiento con el mismo recurso bajo condiciones de acumulación del forraje producido durante toda la estación de crecimiento (Ferri *et al.*, 1998).

La variación en el CMO, debida a la duración del período de acumulación de forraje, puede estar determinada, tanto por el efecto de las características no nutricionales de la vegetación (cantidad de biomasa y estructura) (Sollenberger y Burns, 2001), como por la modificación de la estructura interna de los tejidos de la planta y el contenido de nutrientes. En este ensayo las variaciones del contenido de fibra y digestibilidad del forraje fueron pequeñas entre tratamientos. Es probable que las modificaciones sobre el desarrollo morfológico de la pastura, producidas por los diferentes periodos de acumulación, hayan tenido un mayor efecto relativo sobre el consumo, que las modificaciones producidas a nivel de componentes

químicos. La relación hoja:tallo podría afectar las dimensiones del bocado y tasa de bocado (Drescher *et al.*, 2006) y en consecuencia el consumo de forraje.

Método directo o por corte

Las condiciones experimentales para implementar la estimación del consumo por corte estuvieron dentro de las mencionadas como óptimas (período de pastoreo corto, sitios de muestreo en pre- y pospastoreo apareados, pastura homogénea en composición botánica y libre de deposiciones, forraje removido representando una proporción importante del ofrecido) para lograr mediciones precisas (Macon *et al.*, 2003). La acumulación de forraje entre los cortes determina la subestimación del consumo, con un efecto importante en períodos de pastoreo prolongados (> 3 d). Sin embargo, este efecto se minimiza con períodos de pastoreo cortos y diferencias importantes entre la cantidad del forraje medido en pre- y pospastoreo (Meijs *et al.*, 1982) como en el presente trabajo. Por lo expuesto, se desestimó la acumulación de forraje durante los períodos de pastoreo (el tiempo entre el corte de pre- y pospastoreo fue de 1 día, la diferencia en la cantidad de forraje entre pre- y pospastoreo fue en promedio de 1050 kg MO ha⁻¹), a esto se suma que el crecimiento de *P. coloratum* diferido es bajo a nulo durante el período invernal. Por otro lado, esta técnica podría sobrestimar el consumo debido a la pérdida de forraje por desprendimiento de las láminas senescentes, su posterior arrastre por el viento y enterrado por la acción del pisoteo.

Los inconvenientes de la técnica por corte se asocian con la imposibilidad de obtener estimaciones individuales del consumo y además requiere muestrear la pastura con frecuencia. Mientras que tiene la ventaja que permite disponer de los datos de consumo en forma rápida luego de efectuado el corte de pospastoreo y estimada la concentración de MS y cenizas.

Recolección total de heces y DMO estimada con la técnica *in vitro*

La exactitud en la estimación del consumo, a través de esta técnica, está limitada en mayor medida por los errores en la medición de la digestibilidad que por la excreción fecal, los que se incrementan con el aumento en la digestibilidad (Mayes y Dove, 2000). En el presente trabajo, los valores de digestibilidad *in vitro* del forraje fueron bajos (≤ 401 g kg⁻¹ MO; **Cuadro 2**), por ende el efecto sobre las estimaciones del consumo por errores en las mediciones de la digestibilidad, estaría atenuado.

La técnica *in vitro* es una de las más utilizadas para estimar la digestibilidad de la dieta, aunque presenta varias desventajas (Mayes y Dove, 2000). Es difícil obtener muestras que representen la digestibilidad del forraje consumido por los animales en pastoreo, si se carece de animales con fistula de esófago. Por otra parte, la estimación indirecta de la digestibilidad del forraje pastoreado involucra determinaciones de masa

forrajera y DIVMO en pre- y pospastoreo. En consecuencia, el error asociado con la estimación de la digestibilidad de la dieta es el resultado de los errores acumulados en la estimación de los cuatro componentes de la ecuación (masa forrajera y DIVMO en pre- y pospastoreo). Aún si las muestras representan la dieta, la digestibilidad *in vitro* ajustada a través de mediciones *in vivo* podría ser diferente de las digestibilidades *in vivo* de los animales en pastoreo. Las digestibilidades *in vivo* del forraje de los animales en pastoreo podrían diferir de las estimaciones *in vitro* debido a diferencias en el nivel de consumo dietario o en el tiempo de retención de la digesta en el rumen (Dove *et al.*, 2000) de los animales en pastoreo, respecto a los animales utilizados en la estimación de la digestibilidad *in vivo* que a *posteriori* se utilizará (como estándar en la digestibilidad *in vitro*) para establecer la calibración *in vitro:in vivo*.

Recolección total de heces y DMO estimada por el índice del N fecal

El principal problema que presenta la técnica del índice del N fecal es la pérdida de N en las muestras de heces, que aumentaría con el incremento en la concentración de N. En el presente trabajo, las concentraciones de N fueron bajas y variaron entre 10,2 y 14,5 g kg⁻¹ MO, por lo que se esperaría que las pérdidas de N, por el secado de las heces, se mantuviesen en niveles bajos y similares entre tratamientos. Por otro lado, el forraje correspondiente a todos los tratamientos puede ser considerado de baja calidad, tomando en cuenta los bajos contenidos celulares (1000 - FDN) y los restantes valores de las variables (**Cuadro 2**) que presentó el forraje diferido. El N total fecal (NTF) por unidad de consumo no se modificaría con los tratamientos, debido a que una proporción de hidratos de carbono estructurales, elevada y similar entre tratamientos, se fermentaría en el ciego-colon. De esta manera, la relación matemática existente entre los valores de digestibilidad y la concentración de N fecal determinada en condiciones de confinamiento (Ferri *et al.*, 2003) se verificaría también para condiciones de pastoreo. Lukas *et al.* (2005) encontraron efectos pequeños de la variación en la composición de la dieta, sobre la concentración de N fecal, y obtuvieron una estrecha relación entre la digestibilidad de la MO de la dieta y la concentración de N fecal. Las principales ventajas de esta técnica son presentar requerimientos analíticos reducidos y simples, además de prescindir del muestreo de la dieta.

N-alcanos

Uno de los supuestos de la técnica de los *n*-alcanos, para la estimación del consumo, es la recuperación similar de los pares de *n*-alcanos (Dove y Mayes, 2005). Por lo tanto, parte de la variación entre las estimaciones de consumo utilizando diferentes pares de *n*-alcanos podría estar asociada con diferencias en la recuperación fecal entre pares de *n*-alcanos. Sin embargo, en el presente trabajo las diferencias entre las estimaciones de CMO a partir de los pares *n*-C₃₁:*n*-C₃₂ o *n*-C₃₃:*n*-C₃₂ fueron inconsistentes entre estaciones de crecimiento (**Cuadro 3**).

La técnica de los *n*-alcanos, en comparación con las otras técnicas evaluadas, sobreestimó el consumo de los ovinos en pastoreo (**Cuadro 3**). Estos resultados se explicarían por la posible falta de correspondencia entre las muestras tomadas por corte de la pastura y la dieta de los animales. Los ovinos ejercieron una fuerte selección por lámina foliar (Ferri, 2002), la cual presentaría una mayor concentración de *n*-alcanos que el tallo (Dove y Mayes, 2005). En consecuencia, la dieta de los animales tendría una mayor concentración de *n*-alcanos que las muestras obtenidas de la pastura. Para asegurar que el muestreo del forraje refleje lo removido del estrato de pastoreo, varios autores sugieren que se utilicen animales provistos de fístulas de esófago (Coates y Penning, 2000; Dove *et al.* 2000). Sin embargo, las muestras de esófago (recolectadas sobre períodos de 10 a 30 min) reflejarían pobremente la variación diaria en los componentes de la dieta (Dove y Mayes, 2005), principalmente en pastoreos rotativos con una rápida remoción del forraje. Lo anterior sugiere la necesidad de estudiar el patrón de *n*-alcanos en las distintas fracciones morfológicas, para evaluar la posibilidad de estimar la proporción de dichas fracciones en la dieta con el muestreo fecal (Mayes y Dove, 2000) y estimar la concentración de *n*-alcanos en el forraje ingerido. Otra explicación posible, de la sobreestimación en el CMO, sería la estimación errónea de la dosificación del marcador (*n*-C₃₂). Es probable que algunos animales regurgitaran y expulsaran el pellet conteniendo el marcador, con lo cual los cálculos se realizarían con una cantidad mayor de marcador que la dosis real. La cantidad menor de marcador dosificada determinaría una concentración menor en heces, una sobreestimación en la cantidad de heces excretada y en consecuencia en el consumo. Sin embargo, en nuestro trabajo no se observaron pellets en las áreas de pastoreo.

En relación con las restantes técnicas de estimación indirecta del consumo, la técnica de los *n*-alcanos, se caracteriza por prescindir de las estimaciones de excreción diaria de heces y digestibilidad de la dieta. Aunque, ésta requiere de equipamiento costoso para analizar el material.

Comparaciones entre técnicas de estimación del consumo

Las estimaciones del CMO correlacionadas más estrechamente fueron las obtenidas con la recolección total de heces y DMO, determinada esta última por la técnica *in vitro* o por el índice del N fecal (**Cuadro 4**). A las anteriores siguieron las estimaciones realizadas mediante los pares de *n*-alcanos *n*-C₃₁:*n*-C₃₂ y *n*-C₃₃:*n*-C₃₂. Las estimaciones a partir de la técnica de los *n*-alcanos se asociaron más estrechamente con la recolección total de heces y DMO_{N fecal}, que con DMO_{in vitro}. Esto último, probablemente, estaría explicado porque el N fecal, al igual que los *n*-alcanos, permite obtener una estimación de la variación individual en la DMO. La técnica por corte tendió ($P < 0,10$) a correlacionarse con la recolección total de heces y

DMO_{in vitro}. Mientras que, las correlaciones no fueron significativas ($r \leq 0,45$; $P > 0,05$) con las técnicas evaluadas restantes.

En la literatura existe escasa información sobre comparaciones entre la técnica por corte y la de *n*-alcano. Entre dichas técnicas, Smit *et al.* (2005) encontraron correlaciones significativas pero débiles ($r < 0,50$). Mientras que las correlaciones observadas, por los mismos autores, entre las estimaciones del consumo mediante los diferentes pares de *n*-alcanos fueron estrechas ($r > 0,90$). Por otro lado, existe abundante evidencia sobre la inconsistencia de las relaciones entre técnicas que emplean la digestibilidad *in vitro* para predecir la digestibilidad de la dieta y la técnica de los *n*-alcanos (Dove *et al.*, 2000; Mayes y Dove, 2000).

CONCLUSIONES

El estudio muestra las dificultades asociadas con la obtención de estimaciones exactas del consumo en condiciones de pastoreo. En términos generales, las técnicas utilizadas fueron sensibles a los efectos de tratamiento (período de acumulación de forraje) y uno de los principales problemas encontrados fue la recolección de muestras representativas de la dieta consumida por los animales. En consecuencia, la selección de la técnica dependerá de la posibilidad de obtener muestras representativas de la dieta, tipo de evaluación requerida (grupal o individual) y medios analíticos disponibles.

La técnica por corte demanda una labor de campo importante en la toma de muestras. Sin embargo, este muestreo puede ser requerido para caracterizar la pastura y explicar la respuesta animal. Las estimaciones indirectas del consumo más estrechamente asociadas entre sí, fueron las obtenidas a partir de la recolección total de heces combinada con la digestibilidad del forraje ingerido, determinada esta última mediante la técnica *in vitro* o por el índice del N fecal. En la técnica *in vitro* a diferencia del índice del N fecal se ignora la variación animal en la digestibilidad. Además, para aplicar la técnica *in vitro* es necesario disponer de un ovino o bovino con fístula de rumen como fuente de inóculo. La técnica del índice del N fecal requiere de ensayos de alimentación para estimar el nitrógeno total fecal, utilizando el mismo forraje que en pastoreo. La utilidad de esta técnica queda, entonces, restringida a situaciones donde el forraje utilizado en pastoreo puede ser cosechado y empleado simultáneamente para efectuar el ensayo de alimentación. Aparentemente, el método de los *n*-alcanos sobreestimó el CMO, lo cual podría deberse a errores introducidos en el muestreo de la dieta. La aplicación de esta técnica requeriría de la realización de estudios para poder predecir la concentración de *n*-alcanos en el forraje ingerido.

LITERATURA CITADA

- Alexander, R.H., and M. McGowan. 1966. The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages. An investigation of the problems associated with continuous large scale operation. J. Br. Grassl. Soc. 21:140-147.
- Coates, D.B., and P. Penning. 2000. Measuring animal performance. p. 353-402. In t'Mannetje L., and R.M. Jones (eds.) Field and laboratory methods for grassland and animal production research. CAB International, Wallingford, UK.
- Dove, H., M. Freer, and J.Z. Foot. 2000. The nutrition of grazing ewes during pregnancy and lactation: a comparison of alkane-based and chromium/*in vitro*-based estimates of herbage intake. Aust. J. Agric. Res. 51:765-777.
- Dove, H. and R.W. Mayes. 2005. Using n-alkanes and other plant was components to estimate intake, digestibility and diets composition of grazing/browsing sheep and gotas. Small Rum. Res. 59:123-139.
- Drescher, M., I.M.A. Heikoning, J.G. Raats, and H.H.T. Prins. 2006. The role of grass ítems as structural foraging deterrents and their effects on the foraging behaviour of cattle. Appl. Anim. Behav. Sci. 101:10-26.
- Ferri, C.M. 2002. Implicancias del diferimiento de la utilización de *Panicum coloratum* L. sobre la estructura de la vegetación, la composición química del forraje y el consumo de ovinos en pastoreo. 161 p. Tesis de Doctorado en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Argentina.
- Ferri, C.M., J.H. Pagella, M.A. Brizuela, y N.P. Stritzler. 2007. Concentración de *n*-alcanos en *Panicum coloratum* cv. Verde. p. 277-279. In V Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina. 02-05 de mayo de 2007. Asociación Latinoamericana de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina.

Ferri, C.M., H.J. Petruzzi, N.P. Stritzler, y V.V. Jouve. 1998. Consumo voluntario, digestibilidad *in vivo* y proteína bruta dietaria en distintas épocas de utilización de *Panicum coloratum* diferido. Rev. Arg. Prod. Anim. 8:163-170.

Ferri, C.M., N.P. Stritzler, M.A. Brizuela, and H.J. Petruzzi. 2003. *In vivo* digestibility of kleingrass from fecal nitrogen excretion. J. Range Manage. 56:52-55.

Ferri, C.M., N.P. Stritzler, M.A. Brizuela, F.I. Piper, y H.J. Petruzzi. 2001. Efecto de la oferta de pasto sobre la ingestión de ovinos en pastoreo de *Panicum coloratum* L. diferido. Invest. Agrar. Prod. Sanid. Anim. 16:281-289.

Lippke, H. 2002. Estimation of forage intake by ruminants on pasture. Crop Sci. 42:869-872.

Lukas, M., K.-H. Südekum, G. Rave, K. Friedel, and A. Susenbeth. 2005. Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. J. Anim. Sci. 83:1332-1344.

Macon, B., L.E. Sollenberger, J.E. Moore, C.R. Staples, J.H. Fike, and K.M. Portier. 2003. Comparison of three techniques for estimating the forage intake of lactating dairy cows on pasture. J. Anim. Sci. (Cambridge) 81:2357-2366.

Mayes, R.W., and H. Dove. 2000. Measurement of dietary intake in free-ranging mammalian herbivores. Nutr. Res. Rev. 13:107-138.

Mayes, R.W., H. Dove, X.B. Chen, and J.A. Guada. 1995. Advances in the use of faecal and urinary markers for measuring diet composition, herbage intake and nutrition utilization in herbivores. p. 341-406. *In* Journet, M. *et al.* (eds.) Recent development in the nutrition of herbivores. INRA Editions, Paris, France.

Mayes, R.W., C.S. Lambs, and P.M. Colgrove. 1986. The use of dosed and herbage *n*-alkanes as markers for the determination of herbage intake. J. Agric. Sci. (Cambridge) 107:161-170.

Meijs, J.A.C., R.J.K. Walters, and A. Keen. 1982. Swards methods. p. 11-36. *In* J.D. Leaver (ed.) Herbage intake handbook. The British Grassland Society, Hurley, UK.

Rymer, C. 2000. The measurement of forage digestibility *in vivo*. p. 113-134. In Givens, D.I. *et al.* (eds.) Forage evaluation in ruminants. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.

Smit, H.J., H.Z. Taweel, B.M. Tas, S. Tamminga, and A. Elgersma. 2005. Comparison of techniques for estimating herbage intake of grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:1827-1836.

Sollenberger, L.E., and J.C. Burns. 2001. Canopy characteristics, ingestive behaviour and herbage intake in cultivated tropical grassland. p. 321-327. Proc. XIX Int. Grassl. Congr., Sao Pedro, Sao Paulo, Brazil. 11-21 February 2001. Brazilian Society of Animal Husbandry, Piracaciba, Sao Paulo, Brazil.

Van Soest, P.J., and J.B. Robertson. 1985. Analysis of forage and fibrous food. 165 p. Cornell Univ. Press, Ithaca, New York, USA.

Cuadro 1. Detalle de los tratamientos aplicados a una pastura de *Panicum coloratum* cv. Verde, durante dos estaciones de crecimiento (1996-1997 y 1997-1998).

Table 1. Details of the treatments applied to a *Panicum coloratum* cv. Verde pasture, during two growing seasons (1996-1997 and 1997-1998).

Estación de crecimiento	Tratamiento [†]	Fecha inicio tratamiento	Fecha inicio pastoreo	Período acumulación de forraje (días)
1996-1997	T ₁ 270	17/10/1996	12/07/1997	268
	T ₁ 175	16/01/1997		177
	T ₁ 145	14/02/1997		148
1997-1998	T ₂ 215	11/12/1997	16/07/1998	216
	T ₂ 195	02/01/1998		195
	T ₂ 165	02/02/1998		164

[†]El subíndice indica la estación de crecimiento, y el número siguiente la duración en días de cada período de acumulación de forraje.

Cuadro 2. Composición química y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (MO) de *Panicum coloratum* cv. Verde, con seis diferentes períodos de acumulación de forraje, durante dos estaciones de crecimiento (1996-1997 y 1997-1998).

Table 2. Chemical composition and *in vitro* organic matter (MO) digestibility of *Panicum coloratum* cv. Verde, with six initiation dates of forage accumulation, during two growing seasons (1996-1997 and 1997-1998).

Variables	Tratamientos [†]						EE
	T ₁ 270	T ₁ 175	T ₁ 145	T ₂ 215	T ₂ 195	T ₂ 165	
	----- g kg ⁻¹ MS -----						
Ceniza	73b	93ab	120a	73b	81ab	88ab	7
	----- g kg ⁻¹ MO -----						
Proteína bruta	26cd	29c	34b	24d	27cd	37a	1
Fibra detergente neutro	815ab	806ab	792b	821a	815ab	801ab	5
Fibra detergente ácido	500a	492a	502a	482a	482a	485a	8
Lignina detergente ácido	75a	73a	73a	62ab	56b	63ab	2
Digestibilidad <i>in vitro</i>	385b	401a	361d	381bc	381bc	367cd	3

En cada fila, medias con diferentes letras difieren entre sí según test de Tukey (P < 0,05).

EE: error estándar de la media.

[†]Acumulación del forraje producido durante toda la estación de crecimiento 1996-1997 (T₁270), y después de cortes realizados en dicha estación a mediados de enero (T₁175) y febrero (T₁145), y después de cortes realizados a mediados de diciembre (T₂215) y principios de enero (T₂195) y febrero (T₂165) en la estación de crecimiento 1997-1998.

Cuadro 3. Consumo de materia orgánica por ovinos pastoreando *Panicum coloratum* cv. Verde, estimado por la diferencia entre la biomasa de forraje en pre- y pospastoreo (pre-P – pos-P), por la recolección total de heces en combinación con la digestibilidad de la materia orgánica de la dieta estimada mediante la técnica *in vitro* (DMO_{in vitro}) o el índice del N fecal (DMO_{N fecal}), y por la técnica de los *n*-alcanos utilizando los pares *n*-C₃₁:*n*-C₃₂ y *n*-C₃₃:*n*-C₃₂.

Table 3. Organic matter intake by rams grazing *Panicum coloratum* cv. Verde as estimated by pre- and post-grazing (pre-P – pos-P) difference in standing forage mass, the total daily faeces collection in combination with diet organic matter digestibility assessed by the *in vitro* technique (DMO_{in vitro}) or the fecal N index (DMO_{N fecal}), and the *n*-alkane technique using *n*-C₃₁:*n*-C₃₂ or *n*-C₃₃:*n*-C₃₂ pairs.

Tratamiento [†]	Forraje pre-P - pos-P	Recolección total heces		N-alcanos		Media [‡]
		DMO _{in vitro}	DMO _{N fecal}	<i>n</i> -C ₃₁ : <i>n</i> -C ₃₂	<i>n</i> -C ₃₃ : <i>n</i> -C ₃₂	
----- g kg PV ^{-0,75} -----						
T ₁ 270	46,6	40,9	36,8	56,8	58,0	47,8cd
T ₁ 175	46,6	42,0	37,7	57,3	57,8	48,3bcd
T ₁ 145	55,5	47,8	44,5	58,0	60,8	53,3ab
Media ¹	49,6b	43,7bc	39,3c	56,8a	58,4a	49,6
T ₂ 215	34,9	37,6	35,8	55,8	51,3	43,1d
T ₂ 195	37,2	41,6	40,5	69,2	61,5	50,0abc
T ₂ 165	46,5	50,7	42,8	68,9	57,3	53,2a
Media ²	39,5c	42,9c	40,5c	64,1a	56,4b	48,7

¹En cada fila, medias con diferente letra difieren entre sí según test de Tukey (P < 0,05).

²En la columna, medias con diferente letra difieren entre sí según test de Tukey (P < 0,05).

[†]Acumulación del forraje producido durante toda la estación de crecimiento 1996-1997 (T₁270), y después de cortes realizados en dicha estación a mediados de enero (T₁175) y febrero (T₁145), y después de cortes realizados a mediados de diciembre (T₂215) y principios de enero (T₂195) y febrero (T₂165) en la estación 1997-1998.

Cuadro 4. Correlaciones entre estimaciones del consumo de materia orgánica de ovinos pastoreando *Panicum coloratum* cv. Verde obtenidas por la diferencia entre la biomasa de forraje en pre- y postpastoreo (pre-P - pos-P), por la recolección total de heces en combinación con mediciones de digestibilidad de la materia orgánica de la dieta mediante la técnica *in vitro* (DMO_{in vitro}) o el índice del N fecal (DMO_{N fecal}), y por la técnica de los *n*-alcanos utilizando los pares *n*-C₃₁:*n*-C₃₂ y *n*-C₃₃:*n*-C₃₂ (n = 12).

Table 4. Correlations between estimations of organic matter intake of rams grazing *Panicum coloratum* cv. Verde obtained by the standing forage mass difference at pre- and post-grazing (pre-P - pos-P), the total daily faeces collection in combination with diet organic matter digestibility assessed by the *in vitro* technique (DMO_{in vitro}) or the fecal N index (DMO_{N fecal}), and the *n*-alkane technique using *n*-C₃₁:*n*-C₃₂ or *n*-C₃₃:*n*-C₃₂ pairs (n = 12).

	Forraje Pre-P – pos-P	Recolección total heces		<i>N</i> -alcanos <i>n</i> -C ₃₁ : <i>n</i> -C ₃₂
		DMO _{in vitro}	DMO _{N fecal}	
Recolección				
total de heces				
DMO _{in vitro}	0,52§	-----		
DMO _{N fecal}	0,45	0,83***	-----	
<i>N</i> -alcanos				
<i>n</i> -C ₃₁ : <i>n</i> -C ₃₂	0,23	0,51§	0,63*	-----
<i>n</i> -C ₃₃ : <i>n</i> -C ₃₂	0,16	0,40	0,63*	0,64*

§P < 0,10; *P < 0,05; ***P < 0,001