



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA

---



## **“Degradabilidad ruminal de distintos tipos de forrajes en novillos consumiendo dietas con o sin taninos”**

**Nicolás García**

Trabajo final de intensificación para optar al grado académico de Ingeniero Agrónomo

Bahía Blanca, noviembre 2023



# “Degradabilidad ruminal de distintos tipos de forrajes en novillos consumiendo dietas con o sin taninos”

**Nicolás García**

**Tutor:**

Ing. Agr. Dr. Mariano Menghini

**Consejero:**

Ing. Agr. PhD José Arroquy

Bioq. Dra. Marcela F. Martínez

**Presentación formal académica:**

Departamento de Agronomía

Universidad Nacional del Sur



## **Agradecimientos**

Quiero agradecer a mi familia que es el pilar fundamental de mi vida, por darme esta oportunidad, acompañarme y apoyarme en todas mis decisiones.

A mi tutor Ing. Agr. Dr. Mariano Menghini, consejeros Ing. Agr. Phd José Arroquy y Bioq. Dra. Marcela F. Martínez por su profesionalismo, dedicación y constante apoyo.

A Delia por su predisposición y ayuda en el procesamiento de laboratorio.

A mis amigos de siempre y amigos que fui haciendo durante esta hermosa etapa por acompañarme siempre y por los lindos momentos compartidos.

A la Estación Experimental INTA Cesáreo Naredo, por abrirme sus puertas para poder realizar mi tesina.

A la UNS (Universidad Nacional del Sur) por formarme a lo largo de estos años tanto profesionalmente como personalmente.

## Resumen

El objetivo del estudio fue determinar la degradabilidad ruminal de cuatro especies forrajeras utilizadas en el sudoeste bonaerense (*Onobrychis viciifolia*, *Medicago sativa*, *Thynopirum ponticum*, *Eragrostis curvula*) en dos ambientes ruminales contrastantes con taninos (*Onobrychis viciifolia*) o libre de taninos (*Medicago sativa*). Cada especie fue colectada en dos sitios para obtener mayor variabilidad de datos. El ensayo con los animales se realizó en las instalaciones de la Estación Experimental INTA Cesáreo Naredo ubicada en cercanías a la localidad de Guaminí (Bs As). Mientras que, el procesamiento y análisis de muestras, junto con el procesamiento de los datos se realizó en el Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. Se utilizaron cuatro novillos Aberdeen angus colorados ( $587 \pm 55$  kg) provistos de cánula ruminal, dos consumiendo una pastura pura de *M. sativa* y dos restantes consumiendo *O. viciifolia*. Los animales tuvieron un período de acostumbramiento a las pasturas de 19 días (1 al 19 de diciembre de 2022). Luego del acostumbramiento comenzó la fase experimental durante 72 h, donde se comenzó con la colocación de las muestras en rumen. Para determinar la degradabilidad *in situ* de la materia seca (MS) se utilizaron bolsas ANKOM (23 x 9 cm; tamaño de poro de 50  $\mu$ m). En cada bolsa se pesó 5g de muestra de forraje previamente molida de las especies descriptas anteriormente. Cada bolsa fue pesada y rotulada individualmente. Además, cada muestra de forraje se colocó por duplicado en los tiempos de incubación, para mejorar la precisión de la determinación. Las bolsas fueron selladas con calor para evitar pérdidas de material durante la incubación. Los tiempos de exposición de las muestras fueron: 0, 3, 6, 12, 24, 48, y 72 h y la remoción fue simultánea a las 72 h. Las muestras correspondientes al horario 0 se expusieron unos 5 minutos al licor ruminal. Además, se incluyó un blanco (bolsa sin muestra). Se calculó la desaparición ruminal de la materia seca (DRMS) por diferencia de peso entre la MS contenida en la bolsa previo a la incubación y la MS remanente luego de la incubación, los lavados y secado. A su vez se calculó la tasa fraccional de desaparición de la MS para los diferentes períodos de exposición ruminal. Se calcularon los parámetros de cinética de degradación ("a", "b", "c"), empleando Solver del Excel siguiendo el modelo exponencial propuesto por Ørskov y McDonald (1979). Las leguminosas alcanzaron el plateau a partir de las 24 h (en ambos ambientes), mientras que, las gramíneas requieren de mayor tiempo de exposición ruminal. Se registraron las máximas tasas de degradación en el horario de las 3 a 6 h de exposición, siendo de 3 a 4%/h para las leguminosas, 2%/h para *T. ponticum* y menores a 1%/h en *E. curvula*. Observamos que no hubo interacciones ( $P > 0,05$ ) Ambiente x Especie para ningún parámetro de degradabilidad *in situ* (a excepción de "c" que se incrementó levemente en el ambiente de *O. viciifolia*). Ambos ambientes ruminales mostraron valores muy similares de degradabilidad. Siendo los parámetros "a" y "b" del modelo y la DE iguales entre las especies forrajeras estudiadas. Por otro lado, hay un significativo efecto entre especies forrajeras ( $P < 0,001$ ) para todos los parámetros evaluados del modelo. La DE fue aumentando crecientemente desde *E. curvula* < *T. ponticum* < *O. viciifolia* < *M. sativa*. Por lo tanto, el tipo de leguminosa que consumen los animales, con o sin taninos, no cambia los parámetros de degradabilidad de la materia seca.

## Índice

<b>TÍTULO</b>	<b>PÁGINA</b>
Introducción.....	1
Hipótesis.....	4
Objetivos.....	4
Materiales y Métodos.....	5
Resultados.....	9
Discusión.....	13
Conclusión.....	15
Bibliografía.....	16

## Índice de imágenes (anexo) y figuras

IMAGEN	PÁGINA
Imagen 1. Vista general del ensayo. Ambas pasturas divididas por alambrado eléctrico.....	18
Imagen 2. Corrales móviles para los dos animales en cada pastura.....	18
Imagen 3. Vista de las pasturas al 22 de diciembre de 2022. Izquierda: Sainfoin. Derecha: Alfalfa.....	18
Imagen 4. Molido de muestras de forraje utilizando molino Wiley.....	19
Imagen 5. Pesaje de material para colocar 5g por bolsa.....	19
Imagen 6. Sellado con calor para evitar pérdidas de material durante la incubación.....	19
Imagen 7. Colocación de tacos en los diferentes tiempos de exposición de las muestras: 0, 3, 6, 12, 24, 48, y 72 h.....	20
Imagen 8. Taco de goma portador de bolsas, cuyas medidas son 2,5 cm x 8 cm de diámetro.....	20
Imagen 9. Bolsas agrupadas de a 17 (16 muestras de forraje + blanco) sujetadas con un precito a un taco de goma.....	20
Imagen 10. Soga cuyo extremo queda por fuera de la cánula, con el rótulo respectivo.....	21
Imagen 11. Lavado de las bolsas con agua fría hasta que el agua saliera transparente.....	21
Imagen 12. Bolsas colocadas en estufa a 60°C hasta peso constante.....	21
Imagen 13. Líquido ruminal obtenido luego de sacar material del rumen (sólido + líquido) y escurrido en cuatro capas de gasa.....	22
Imagen 14. PH tomado inmediatamente luego de sacar el líquido del rumen.....	22
Figura 1. Degradabilidad de la materia seca acumulada de cuatro especies forrajeras (pasto llorón, agropiro, alfalfa y sainfoin) a diferentes tiempos de incubación ruminal, sobre novillos fistulados pastoreando <b>alfalfa</b> .....	9
Figura 2. Degradabilidad de la materia seca acumulada de cuatro especies forrajeras (pasto llorón, agropiro, alfalfa y sainfoin) a diferentes tiempos de	

incubación ruminal, sobre novillos fistulados pastoreando  
**sainfoin**..... 9

Figura 3. Tasa fraccional de degradabilidad ruminal de la materia seca para cuatro especies forrajeras (pasto llorón, agropiro, alfalfa y sainfoin) a diferentes tiempos de incubación ruminal en novillos fistulados pastoreando  
**alfalfa**..... 10

Figura 4. Tasa fraccional de degradabilidad ruminal de la materia seca para cuatro especies forrajeras (pasto llorón, agropiro, alfalfa y sainfoin) a diferentes tiempos de incubación ruminal en novillos fistulados pastoreando  
**sainfoin**..... 11

## Índice de tablas

<b>TABLA</b>	<b>PÁGINA</b>
Tabla 1. Valor nutritivo de alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> ) y Sainfoin ( <i>Onobrychis viciifolia</i> ) al 22 de diciembre de 2022.....	5
Tabla 2. Valor nutritivo de las muestras forrajeras que se incubaron en rumen.....	6
Tabla 3. Caracterización del ambiente ruminal, N-NH <sub>3</sub> y PH.....	8
Tabla 4. Valor minimizado por Solver para el cálculo de los parámetros a, b y c del modelo de Ørskov y McDonald.....	11
Tabla 5. Parámetros de degradabilidad ruminal y degradabilidad efectiva de especies forrajeras en ambientes ruminales contrastantes.....	12
Tabla 6-Anexo. Degradabilidad de la materia seca (DRMS, % MS) de cada recurso en diferentes ambientes ruminales y horario.....	23
Tabla 7-Anexo. Resultados del análisis de varianza para la degradabilidad ruminal de la materia seca acumulada de las 8 fuentes de forraje evaluadas (4 especies x 2 orígenes) divididas en los horarios de exposición al rumen (0, 3, 6, 12, 24, 72 h) para dos ambientes ruminales diferentes (animales consumiendo alfalfa o sainfoin). Elaborado con Infostat.....	23
Tabla 8-Anexo. Tasa de degradabilidad de la materia seca (% MS/h) de cada recurso forrajero en diferentes ambientes ruminales y período horario.....	29
Tabla 9-Anexo. Resultados del análisis de varianza para la tasa degradabilidad ruminal de la materia seca acumulada de las 8 fuentes de forraje evaluadas (4 especies x 2 orígenes) en los períodos horarios de exposición al rumen (0-3; 3-6; 6-12; 12-24; 24-48 y 48-72 h) para dos ambientes ruminales diferentes (animales consumiendo alfalfa o sainfoin). Elaborado con Infostat.....	30

## Introducción

Los sistemas ganaderos en el sudoeste bonaerense son principalmente extensivos, en los cuales la principal fuente de alimentación proviene de la utilización de pasturas. El rumen es la principal cavidad pre gástrica donde los rumiantes realizan una fermentación del forraje que consumen. Esta adaptación del sistema digestivo les permite aprovechar grandes volúmenes de alimentos fibrosos con el fin de obtener nutrientes esenciales. En gran parte de los sistemas ganaderos las leguminosas (nativas o introducidas) tienen un rol clave en la sostenibilidad mediante la fijación de nitrógeno (N), reduciendo los requerimientos de insumos externos al sistema, mejorando la calidad de la dieta (Arroquy *et al.*, 2022) y favoreciendo la reutilización de nutrientes por la excreción del ganado. Además, la presencia de compuestos secundarios bioactivos en las plantas puede afectar el metabolismo de nutrientes en el animal.

Tal como se menciona en Ramos *et al.* (1998) a lo largo de la evolución, las plantas han desarrollado mecanismos de defensas que permiten mantener el equilibrio planta-herbívoro. Por su parte, en los herbívoros han ido apareciendo adaptaciones fisiológicas y etológicas que han permitido reducir el efecto perjudicial de las defensas de las plantas, principalmente de los compuestos secundarios. Paradójicamente, estos compuestos secundarios han sido durante mucho tiempo ignorados en los trabajos de nutrición. En la actualidad, sin embargo, se comienza a valorar su marcada incidencia en la producción agro-ganadera, especialmente en aquellos sistemas basados en el aprovechamiento de pastos.

En las plantas existe una enorme diversidad bioquímica de compuestos secundarios, fruto, tal vez, de su imposibilidad de huida frente a las agresiones. Ahora bien, debido al elevado costo energético que implica su síntesis, las plantas encauzan su metabolismo hacia un tipo u otro de compuesto secundario dependiendo de los recursos disponibles. En general, frente a condiciones severas, como las que se dan en climas áridos, las plantas tienden a aumentar sus defensas, sobre todo de tipo cualitativo (alcaloides, glicósidos cianogénicos, etc.), ya que, en estos casos, les resulta mucho más difícil regenerar los tejidos dañados por los herbívoros. Esto resulta en una intoxicación más fácil del animal en estas condiciones, siendo de especial incidencia en el ganado doméstico cuando su manejo en pastoreo no es el más adecuado, o cuando se enfrenta a la escasez de otros recursos vegetales (Ramos *et al.*, 1998).

Una leguminosa de interés particular es *Onobrychis viciifolia*, dado que es una especie forrajera perenne que está siendo introducida experimentalmente en pasturas del sudoeste bonaerense por sus características de resistencia a las condiciones semiáridas. Esta especie presenta taninos en su composición química. El contenido de taninos condensados representa entre 5 y 8% de la materia seca (MS) aunque tiene menor actividad biológica que en el caso de *Lotus sp.* (Waghorn *et al.*, 1998). Dicha forrajera es potencialmente un cultivo muy útil, particularmente para enfoques agrícolas sostenibles y actualmente se está evaluando como alternativa o complemento a las leguminosas cultivadas ampliamente difundidas en la región, *i.e.* *Medicago sativa* (Alfalfa) y *Trifolium sp.* (Trebol). Una de las características particulares de *O. viciifolia* es que puede ser utilizada *ad libitum* al no producir meteorismo en el ganado (Carbonero *et al.* 2011 y Delgado *et al.*, 2008), evitando la excesiva degradación de la proteína en rumen (Solano Vázquez, H. 1997) por la presencia de taninos.

En la región, las leguminosas forrajeras se utilizan mayoritariamente en mezclas con gramíneas otoño-invierno primaverales para mejorar la calidad de la dieta y lograr una mejor distribución de la oferta forrajera. En los ambientes marginales se introducen a pasturas a base de pasto llorón o agropiro para mejorar la calidad de la dieta y fijar nitrógeno.

Los taninos, son compuestos fenólicos secundarios de elevado peso molecular (500 a > 20.000) presentes en la naturaleza, que se encuentran frecuentemente en frutas, árboles, en

forrajeras templadas, principalmente leguminosas, y otras especies como sorgo utilizadas comúnmente en la alimentación del ganado (García, 2015). De acuerdo a su estructura química, se clasifican en: **taninos hidrolizables (TH)**, que tienen un núcleo central de carbohidratos con ácidos carboxílicos fenólicos unidos por enlace éster; y los **taninos condensados (TC)** que son oligómeros de dos o más flavan-3-oles, como catequina, epicatequina o el correspondiente galocatequina (Makkar, 2007).

Diversos estudios apuntan a que los TC afectan la degradación ruminal de la proteína y carbohidratos (Niderkorn *et al.*, 2012). El efecto de los TC sobre la fermentación ruminal depende de su concentración y sus características estructurales (Huyen *et al.*, 2016), la especie rumiante que lo ingiere (Bueno *et al.*, 2015), la composición de la dieta y/o el tiempo de incubación. Las dosis elevadas de TC en la dieta se asocian con la reducción de la digestibilidad. La reducción de la digestibilidad se debe, entre otras cosas, a la formación de complejos entre TC y los componentes de la dieta (Mueller-Harvey, 2006). Sin embargo, los TC no tienen el mismo efecto en todos los componentes de la dieta, afectando en mayor grado a las proteínas que a los carbohidratos (McMahon *et al.*, 2000).

### **Técnica de degradabilidad *in situ***

La técnica de degradabilidad *in situ* ha sido utilizada para proveer información sobre la cinética de degradación de los alimentos en el rumen. La degradación del alimento está relacionada con la capacidad que tiene el animal de hacer uso del forraje con el fin de obtener energía y sobrellevar las necesidades nutricionales. Para realizar el estudio de degradabilidad ruminal de forrajes, se requiere de animales provistos de una fistula ruminal. El objetivo principal de esta técnica es medir la desaparición de la materia seca (MS) u orgánica de los alimentos, como así también de sus componentes como proteína bruta (PB) o pared celular, cuando son expuestos a las condiciones ruminales. Para ello, los alimentos son colocados en bolsitas porosas que se incuban en el rumen a través de una fistula permanente en el saco dorsal de este órgano.

Dado que la productividad de un animal depende ampliamente de su alimentación y que esta va a estar ligada directamente con el valor nutricional de los componentes de la ración, analizar la composición de la dieta se ha convertido en una herramienta necesaria para ajustar los programas de alimentación.

La fístula o cánula ruminal permite ver y estudiar dentro del rumen, entre otras cosas; el funcionamiento del rumen, que tan rápido se puede degradar un alimento o ingrediente, además, se pueden estudiar los microorganismos que viven dentro del mismo. La práctica de canular animales inició a finales del siglo XIX (Willes, 1972) y gracias a ello se han logrado innumerables avances como determinación del valor nutritivo de las materias primas, entender la función fisiológica del rumen, conocer la composición de la flora microbiana ruminal, estudiar cómo las diferentes situaciones afectan la fermentación o salud de esos microorganismos, y entender la capacidad única que tienen los rumiantes de utilizar materiales fibrosos y hacerlos disponibles para su utilización.

La razón de mayor peso de implantar una cánula permanente en un animal es para obtener información relacionada con las funciones y respuestas del sistema digestivo a diferentes condiciones. A pesar de que existen muchos detractores de esta práctica y de las presiones de grupos de personas en pro de los derechos de los animales, se ha demostrado en diversos experimentos la necesidad de animales fistulados para estudios con el fin de determinar la degradabilidad ruminal y valor nutricional de los alimentos o ingredientes utilizados para alimentación (Elizondo-Salazar y Monge-Rojas, 2020). Según Kristensen *et al.* (2010) los efectos de la canulación ruminal en terneros de 10 días de edad no afecta el consumo de alimento, ganancia de peso o desarrollo ruminal al compararlos con animales no fistulados.

Demostrando que la canulación es un procedimiento seguro y sin implicaciones negativas en el bienestar de los animales. La práctica de canular o fistular animales, a pesar de ser una cirugía invasiva, tiene un postoperatorio simple y los animales pueden volver a su rol normal al día siguiente del procedimiento.

Existen diversos modelos para estimar la degradabilidad ruminal; sin embargo, el modelo de Ørskov que se describe a continuación, es posiblemente el más utilizado (Ørskov y McDonald, 1979):

$$Y = a + b(1 - e^{-ct})$$

Dónde:

Y = Degradabilidad de la MS en el tiempo "t"

a = Fracción soluble (degradabilidad inicial, solubilidad en licor ruminal), %

b = Fracción insoluble potencialmente degradable en el rumen, %

c = Tasa de degradación de b, %/hora

t = Tiempo de incubación, horas

El potencial de degradabilidad está dado por a+b y representa la cantidad de material que puede degradarse dentro del rumen si el tiempo no es el factor limitante. En otras palabras, la degradabilidad total de la muestra es a+b, la cual no puede exceder 100. Por lo tanto, 100-(a+b) representa la fracción que no se degrada en el rumen. Cuando "a" es superior a cero, quiere decir que hay componentes que se degradan rápidamente, que existen compuestos que son solubles, o que la muestra se compone de partículas suficientemente finas para escapar de la bolsa. Para saber si "a" representa la degradación rápida o sencillamente se debe a pérdidas por lavado, se utilizan bolsas testigo que se mojan con agua, se lavan y se secan normalmente. La letra "c" representa la tasa de degradación del material a nivel ruminal.

La degradabilidad real está dada por "Y", que representa la cantidad de material que realmente se degrada en el rumen. "Y" es variable y cuanto más baja sea la tasa de pasaje a nivel ruminal, mayor será el valor "Y". Las constantes "a", "b", y "c" se calculan por un procedimiento de mínimos cuadrados el cual requiere de programas estadísticos. Sin embargo, puede hacerse un aproximado del valor al ajustarse una curva a los puntos experimentales, calculándose las constantes "a, b y c".

A un estado de desarrollo equivalente, las leguminosas tienen mayor degradación ruminal que las gramíneas (Hoffman *et al.*, 1993) debido a que tienen menor contenido de pared celular y mayor contenido celular. Por lo tanto, la degradabilidad ruminal de la pared celular de gramíneas es relevante en el aporte de energía a través de los ácidos grasos volátiles y síntesis ruminal de otros nutrientes (i.e., proteína microbiana, vitaminas, etc.).

A su vez, forrajes con mayores contenidos de fibra como es el caso de las gramíneas en función a las leguminosas resultan tener menores proporciones de fracciones solubles, es decir menores valores de parámetro "a" del modelo propuesto por Ørskov y McDonald (1979). Conocer la magnitud de dichos cambios resulta original en el caso de realizar la comparación sobre diferentes ambientes ruminales con o sin taninos.

Por lo tanto, sobre la base de los antecedentes anteriormente mencionados se busca ampliar el conocimiento sobre los posibles efectos de la presencia de *Onobrychis viciifolia* y sus metabolitos en la dieta de rumiantes a pastoreo, sobre la degradación de las principales pasturas utilizadas por los rumiantes en el sudoeste bonaerense. De este modo entender posibles respuestas animales que se obtienen de la utilización de dichos recursos.

## **Hipótesis**

Forrajes con mayores contenidos de fibra resultan tener menores proporciones de los parámetros relacionados a las fracciones solubles y potencialmente degradable de la ecuación que se utiliza para estimar la degradabilidad ruminal.

Ambientes ruminales conteniendo taninos de *Onobrychis viciifolia* modifica los parámetros de degradabilidad ruminal, respecto del ambiente ruminal conteniendo alfalfa (control).

## **Objetivos**

Evaluar la degradabilidad de la materia seca *in sacco* de gramíneas y leguminosas forrajeras utilizadas en el sudoeste bonaerense, en dos ambientes ruminales contrastantes, *Onobrychis viciifolia* vs. *Medicago sativa*.

## Materiales y métodos

### Sitio experimental

El ensayo de degradabilidad ruminal con animales fistulados se realizó en las instalaciones de la Estación Experimental INTA Cesáreo Naredo ubicada en la Ruta Nac. Nº 33 km. 221. Asimismo, el procesamiento y análisis de muestras, junto con el procesamiento de los datos se realizó en el Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (UNS).

### Animales y tratamientos

Se utilizaron cuatro novillos Aberdeen Angus colorados fistulados en rumen ( $587 \pm 55$  kg) ubicados sobre parcelas bajo pastoreo directo (Imagen 1-Anexo). Dos novillos fueron asignados a una parcela de *Medicago sativa* (Alfalfa) y los dos restantes a una parcela de *Onobrychis viciifolia* (Sainfoin) constituyendo dos ambientes ruminales diferentes ( $n=2$ ). Los animales tuvieron un período de acostumbramiento a las pasturas de 19 d (del 1 al 19 de diciembre de 2022). Luego del acostumbramiento comenzó la fase experimental el día 19 de diciembre 2022 con la colocación de las muestras en rumen durante 72 h. Las pasturas no presentaron limitaciones de disponibilidad y los animales permanecieron en las mismas provistos de agua limpia durante todo el periodo de evaluación. Con ayuda del personal de INTA se armó un corral con materiales móviles para los dos animales en cada pastura (Imagen 2-Anexo). De este modo, disminuyó el tiempo de traslado de animales y encierre, permitiendo un trabajo, simple y rápido. El valor nutritivo de las pasturas al final de la fase experimental (22 de diciembre) se observa en la Tabla 1 y el aspecto general en la Imagen 3 del anexo.

Tabla 1. Valor nutritivo de pasturas de Alfalfa (*Medicago sativa*) y Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) que utilizaron los animales canulados (22 de diciembre de 2022).

Variable	<i>Medicago sativa</i>	<i>Onobrychis viciifolia</i>
Materia Seca, %	41,7	40,8
Materia Orgánica, %	93,6	93,2
Proteína Bruta, %	12,3	8,6
FDN, %	63,6	62,2
FDA, %	47,4	47,3
LDA-Cenizas, %	11,1	11,8
Cenizas, %	6,3	6,7

FDN: Fibra en Detergente neutro; FDA: Fibra en Detergente Ácido; LDA: Lignina en Detergente Ácido, corregido por cenizas.

Las especies forrajeras utilizadas para la determinación de degradabilidad ruminal de la materia seca (DRMS) fueron cuatro: Agropiro alargado (*Thynopirum ponticum*), Pasto llorón (*Eragrostis curvula*), Alfalfa (*Medicago sativa*) y Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). En cada ambiente ruminal se utilizaron las mismas muestras de forraje. Asimismo, cada especie fue colectada por duplicado en dos sitios diferentes, con el fin de tener variabilidad dentro de la misma especie.

Las muestras de Agropiro alargado y Pasto llorón se colectaron del campo Experimental Napostá (convenio MDA-UNS) el día 25/11/2022. Agropiro se encontraba en espiga embuchada y Pasto llorón en floración, con panoja oscura visible. Mientras que, las muestras de Alfalfa y Sainfoin se obtuvieron de la EEA INTA C. Naredo el día 22/11/2022. Ambas leguminosas se encontraban en floración. Alfalfa en botón floral y Sainfoin en un estadio fenológico más avanzado, a mitad de floración, con pétalos visibles. Cabe destacar que el corte para las cuatro

forrajeras se realizó a la altura del puño de la mano desde el ras del suelo, simulando el consumo animal. El valor nutritivo de las muestras que se incubaron en rumen se observa en la Tabla 2.

Los análisis del valor nutritivo de la pastura y las muestras para incubar se realizaron en el laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. Una vez que se juntó todo el material en el laboratorio, los mismos procedieron a ser secados en estufa por 48 h para la determinación de la materia seca (MS). Luego fueron molidos en un molino Molino Wiley (Thomas Wiley Scientific, Swedesboro, NJ. USA) utilizando una malla de 2 mm (Imagen 4-Anexo). Proteína bruta (PB) se determinó por técnica micro Kjeldahl transformando el N obtenido en PB mediante el factor 6,25 (AOAC, 1990). Fibra en detergente neutro, fibra en detergente ácido y lignina en detergente ácido (FDN, FDA y LDA), por el método secuencial, con  $\alpha$ -amilasa y sin sulfito de sodio, acorde al procedimiento descrito por Van Soest *et al.* (1991) en un baño procesador (Ankom Technology Corp., Fairpoint, NY, USA). Para LDA se descontó el contenido de cenizas. Las cenizas se cuantificaron mediante incineración en mufla (6 h a 550°C, AOAC, 2000). La materia orgánica se cuantificó mediante la resta de MS-cenizas.

**Tabla 2. Valor nutritivo de las muestras forrajeras que se incubaron en rumen.**

Variable	Alfalfa		Sainfoin		Agropiro		Pasto llorón	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Materia Seca, %	25,0	24,9	24,0	23,8	32,0	33,8	42,7	45,3
Materia Orgánica, %	90,6	89,2	92,8	92,2	90,9	87,0	94,0	94,0
Proteína Bruta, %	24,2	25,5	19,8	20,1	8,5	8,0	6,2	6,5
FDN, %	47,6	47,3	51,0	46,9	72,7	71,9	79,6	81,3
FDA, %	26,4	24,6	31,5	30,8	36,0	38,4	42,7	43,1
LDA-Cenizas, %	6,0	5,7	10,1	9,8	2,8	2,6	4,8	4,9
Cenizas, %	9,4	10,8	7,2	7,7	9,1	13,0	6,0	6,0

FDN: Fibra en Detergente neutro; FDA: Fibra en Detergente Ácido; LDA: Lignina en Detergente Ácido, corregido por cenizas.

### Degradabilidad *in situ* de la materia seca

La determinación de la cinética de degradación ruminal de la materia seca se realizó utilizando bolsas ANKOM (23 x 9 cm; tamaño de poro de 50  $\mu$ m). En cada bolsa se pesó 5g de muestra de forraje molida de las especies descriptas anteriormente (Imagen 5-Anexo). Previamente, la bolsa fue pesada y rotulada individualmente. Además, cada muestra de forraje se colocó por duplicado en cada tiempo de incubación, para mejorar la precisión de la determinación. Las bolsas fueron selladas con calor para evitar pérdidas de material durante la incubación (Imagen 6-Anexo). Los tiempos de exposición de las muestras fueron: 0, 3, 6, 12, 24, 48, y 72 h y la remoción fue simultánea (Nocek, 1985) a las 72 h (Imagen 7-Anexo). Las muestras correspondientes al horario 0 se expusieron unos 5 minutos al licor ruminal. Además, se incluyó un blanco (bolsa sin muestra) por cada tiempo de incubación y animal.

Las bolsas se agruparon de a 17 (16 muestras de forraje + blanco) sujetadas con un precinto a un taco de goma, cuyas medidas son 2,5 cm x 8 cm de diámetro (Imagen 8 y 9-Anexo). Las 16 muestras de forraje corresponden a las cuatro especies, muestreadas en dos sitios y a su vez colocadas por duplicado en el animal. Se prepararon un total de 476 bolsas (17 bolsas/taco x 28 tapones). La cantidad de 28 tacos corresponde a los 7 horarios x 4 animales. Del taco de goma se ató una sogá cuyo extremo quedaba por fuera de la cánula, con el rótulo respectivo (Imagen 10-Anexo).

Una vez retiradas las muestras del rumen, se realizó un lavado de las bolsas con agua fría hasta que el agua saliera transparente (Imagen 11-Anexo), descartando cualquier tipo de

residuo de líquido ruminal que pudiera quedar. Luego las bolsas se colocaron en estufa a 60°C hasta peso constante (Imagen 12-Anexo).

### Determinaciones sobre los forrajes

La desaparición ruminal de la materia seca (DRMS) se calculó por diferencia de peso entre la MS contenida en la bolsa previa a la incubación y la MS remanente luego de la incubación, los lavados y secado. Para el cálculo de los parámetros de cinética de degradación se empleó el modelo exponencial propuesto por Ørskov y McDonald (1979):

$$Y = a + b(1 - e^{-ct})$$

dónde: “Y” representa el porcentaje de material que desaparece de la bolsa en el tiempo t (%); “a” representa la fracción soluble (%); “b” la fracción insoluble, potencialmente degradable (%); “c” la tasa fraccional a la cual b es degradada (%/h) y “t” el tiempo de incubación ruminal (horas). Los parámetros “a”, “b” y “c” de este modelo fueron obtenidos mediante Excel, usando la herramienta Solver como describe Fernández (2004). Para ello, se busca minimizar el cuadrado de las diferencias entre los valores observados y predichos por la función no lineal para todos los horarios:

$$\text{Minimizar } \sum_{i=7}^n (Y_i - f(x_i))^2$$

Y<sub>i</sub>: Valores observados en i horarios

f(x<sub>i</sub>): Valores predichos por el modelo Ørskov y McDonald

La degradabilidad efectiva (DE) fue estimada utilizando la ecuación de Ørskov y McDonald (1979):

$$DE = a + \frac{(b \cdot c)}{(c + kp)}$$

Dónde: “a”, representa la fracción soluble; “b” la fracción insoluble potencialmente degradable “c” la tasa fraccional estimados por el modelo de Ørskov y McDonald (1979) y “kp” la tasa de pasaje sólido (%/h). Se utilizaron las siguientes kp= 1,84% para materiales de alto contenido de fibra como agropiro y pasto llorón (Amela, 1997) y 3% para Alfalfa y Sainfoin.

### Caracterización del ambiente ruminal

Se tomaron muestras de líquido ruminal a las 0, 3, 6 y 12 h para análisis de nitrógeno amoniacal N-NH<sub>3</sub> y pH (Tabla 3). El líquido ruminal fue obtenido luego de sacar material del rumen (sólido + líquido) y escurrirlo en cuatro capas de gasa (Imagen 13-Anexo). Para el análisis de N-NH<sub>3</sub>, 50 ml de líquido ruminal fueron acidificados con 0,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 7,2 N (AOAC 1990) y congelados hasta el posterior procesamiento en el laboratorio de Nutrición Animal de la UNS. El pH del líquido ruminal fue tomado inmediatamente luego de sacar el líquido del rumen con un pH-metro (Altronix TP1A) (Imagen 14-Anexo).

Tabla 3. **Caracterización del ambiente ruminal, N-NH<sub>3</sub> y pH (n=2)**

Variable	Ambiente ruminal	Promedio (n=8)	Horarios			
			0	3	6	12
pH	Alfalfa	6,3	6,14	6,10	6,50	6,28
	Sainfoin	6,5	6,78	6,41	6,53	6,53
N-NH <sub>3</sub> , mg N/100 ml	Alfalfa	16,8	17,9	20,3	17,5	15,5
	Sainfoin	12,6	13,5	18,0	13,4	12,2

### **Análisis estadístico**

Para el análisis de los datos de DRMS y su tasa, se siguió un diseño en parcelas divididas para cada ambiente ruminal separadamente, siendo la especie forrajera el factor principal (8 niveles= 4 especies x 2 orígenes) y el factor secundario las horas (7 horarios). El origen de cada muestra de forraje se analiza separadamente, con el fin de evaluar una posible diferencia de degradabilidad en función del sitio donde se toma la muestra. Por lo tanto, cada combinación de ambos factores tiene un n=4 (2 animales x 2 réplicas de cada muestra). Cuando se presentó interacción *Especie x horario* se comparó la DRMS y la tasa de degradación en cada especie forrajera para cada horario por separado.

Para el análisis de los datos de cinética ruminal (“a”, “b” y “c”) y DE se aplicó un ANOVA doble, incluyendo como factores fijos en el modelo el *Ambiente* ruminal (2) y la *Especie* forrajera (4). El origen de la muestra se usa como réplica (n=2). Aquellas variables que presentarán interacción *Ambiente x Especie* se analizaron para cada ambiente por separado. La comparación entre medias se realizó mediante test de Tukey con  $\alpha=0,05$  usando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2020).

## Resultados

### Desaparición ruminal de la materia seca (DRMS)

La desaparición ruminal de la materia seca se ve incrementada con el paso del tiempo. En ambos ambientes ruminales, encontramos una interacción *Especie x Horario* ( $P < 0,0001$ ). Por lo tanto, decidimos analizar la degradabilidad de la MS para cada horario separadamente, con el fin de comparar especies forrajeras. Los resultados para ambientes ruminales de alfalfa y sainfoin se observan en la Figura 1 y 2, respectivamente. En general, observamos que, en ambiente ruminal de alfalfa, la muestra forrajera de alfalfa tuvo los mayores valores de la fracción soluble ( $a=37,9\%$ ), seguidos de sainfoin ( $31,7\%$ ), agropiro ( $19,2\%$ ) y por último pasto llorón ( $12,1\%$ ). Estos valores son prácticamente idénticos a la degradabilidad obtenida en el ambiente de sainfoin, donde la fracción soluble en alfalfa ( $a=38,3\%$ ) fue seguida de sainfoin ( $32\%$ ), agropiro ( $19,3\%$ ) y por último pasto llorón ( $12,8\%$ ).

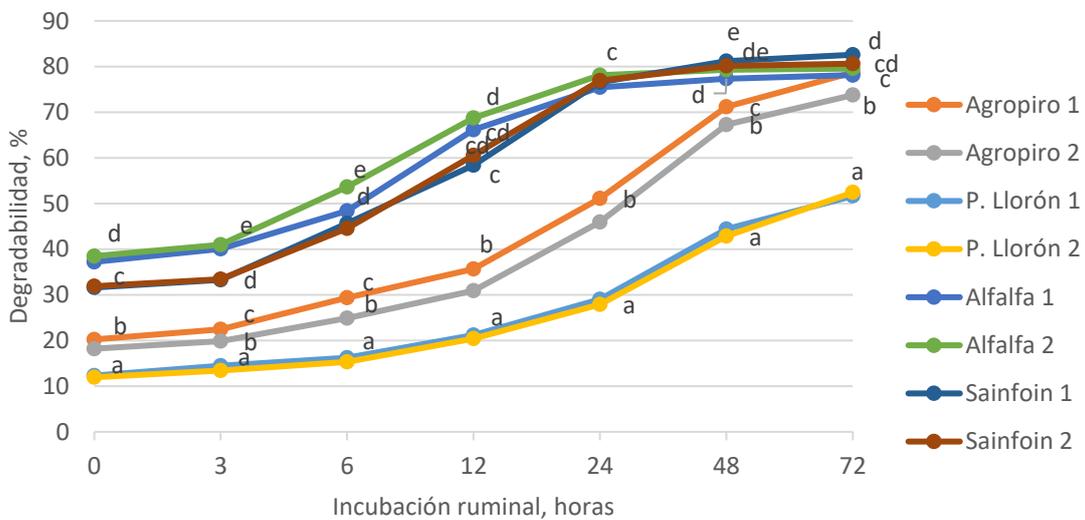


Figura 1. Degradabilidad de la materia seca acumulada para cuatro especies forrajeras (pasto llorón, agropiro, alfalfa y sainfoin) provenientes de dos orígenes a diferentes tiempos de incubación ruminal, sobre animales fistulados pastoreando **alfalfa** ( $n=4$ ). Letras diferentes entre valores para un mismo horario indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey  $P < 0,05$ ).

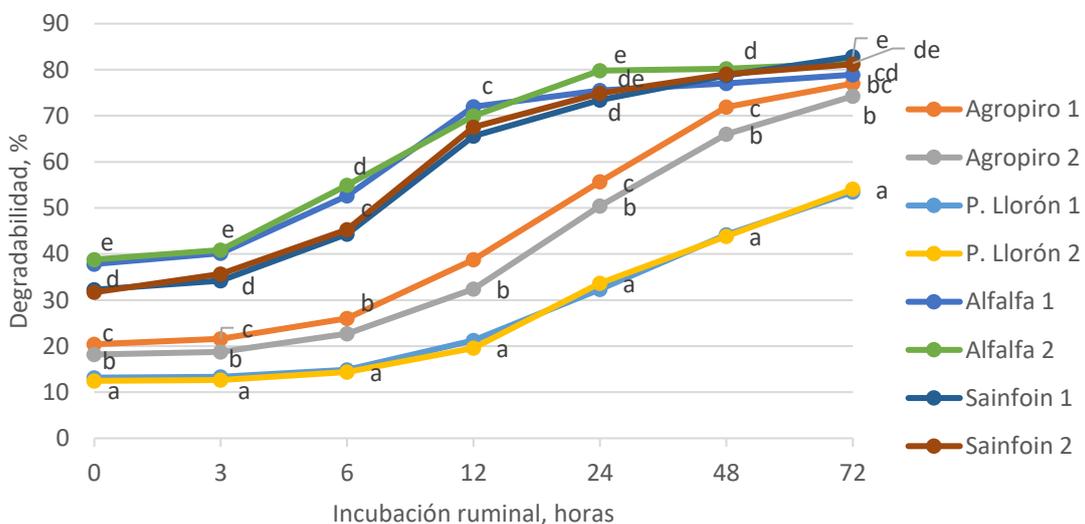


Figura 2. Degradabilidad de la materia seca acumulada para cuatro especies forrajeras (pasto llorón, agropiro, alfalfa y sainfoin) provenientes de dos orígenes a diferentes tiempos de incubación ruminal, sobre animales fistulados pastoreando **sainfoin** (n=4). Letras diferentes entre valores para un mismo horario indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey P<0,05).

### Tasa fraccional de desaparición de las MS

En ambos ambientes ruminales, encontramos una interacción *Especie x Horario* para la tasa fraccional de desaparición de la MS. Por lo tanto, decidimos hacer el análisis para cada horario separadamente, con el fin de comparar especies forrajeras. Los resultados para ambientes ruminales de alfalfa y sainfoin se observan en la Figura 3 y 4, respectivamente. En el ambiente alfalfa, para el primer período 0-3 h no se observan diferencias en la tasa para ninguna de las especies. Comienzan a diferenciarse a partir del segundo período de 3-6 h. Mientras que, en sainfoin al primer período ya se observan mayores valores de tasa para las leguminosas en relación a las gramíneas.

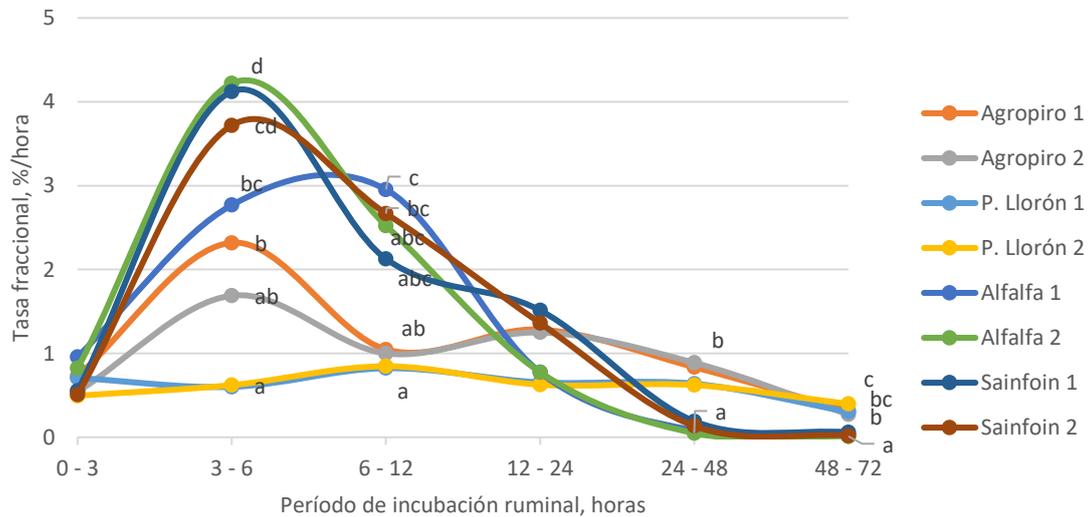


Figura 3. Tasa fraccional de degradabilidad ruminal de la materia seca para cuatro especies forrajeras (pasto llorón, agropiro, alfalfa y sainfoin) provenientes de dos orígenes y para períodos de incubación ruminal sobre animales fistulados pastoreando **alfalfa** (n=4). Letras diferentes entre valores para un mismo horario indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey P<0,05).

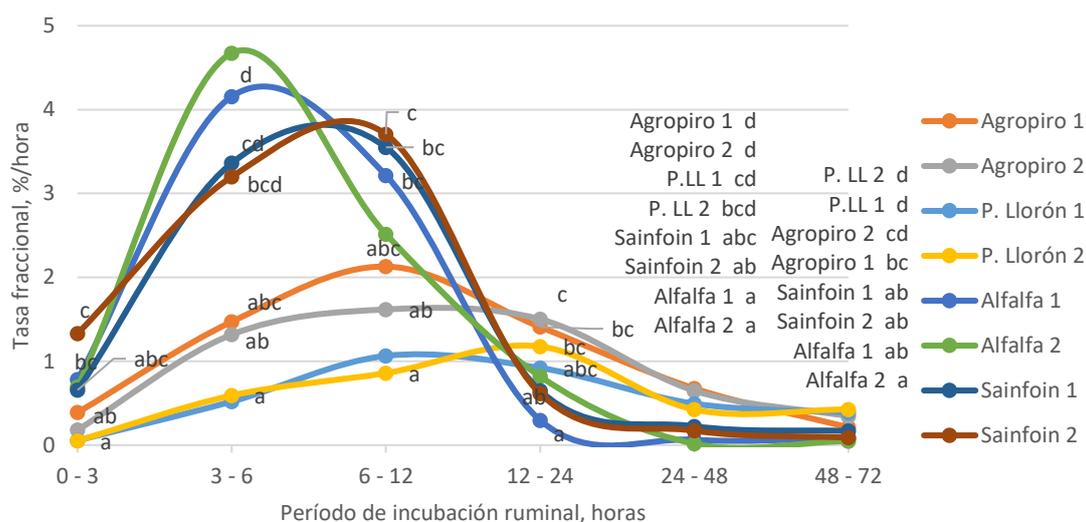


Figura 4. Tasa fraccional de degradabilidad ruminal de la materia seca para cuatro especies forrajeras (pasto llorón, agropiro, alfalfa y sainfoin) provenientes de dos orígenes y para períodos de incubación ruminal sobre animales fistulados pastoreando **sainfoin** (n=4). Letras diferentes entre valores para un mismo horario indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey  $P < 0,05$ ).

#### Parámetros de cinética ruminal y degradabilidad efectiva

Según los valores predichos, observamos en el presente estudio que el modelo de Ørskov y McDonald ajusta mejor para las gramíneas que para leguminosas. Se puede observar en la Tabla 4 el valor minimizado por Solver para calcular los parámetros “a”, “b” y “c”. Un bajo valor de Solver indica que el resultado predicho por el modelo se acerca al resultado observado, por lo tanto, el ajuste resultaría adecuado.

Tabla 4. Valor minimizado por Solver para el cálculo de los parámetros “a, b y c” del modelo de Ørskov y McDonald.

Ambiente	Especie	Valor de Solver
Alfalfa	Pasto llorón	3,04
	Agropiro	17,73
	Alfalfa	56,46
	Sainfoin	61,31
Sainfoin	Pasto llorón	16,05
	Agropiro	29,80
	Alfalfa	78,57
	Sainfoin	82,67

Observamos que no hubo interacciones ( $P > 0,05$ ) *Ambiente x Especie* para ningún parámetro de degradabilidad *in situ* ni para la DE (Tabla 5). Esto indicaría que los parámetros “a”, “b”, “c” y DE entre las especies se comportaron de manera similar en cada ambiente ruminal. Hay un significativo efecto entre especies forrajeras ( $P < 0,001$ ) para todos los parámetros evaluados, es decir que el valor de los parámetros resulta estadísticamente diferente entre especies forrajeras y no entre ambientes ruminales. La DE fue aumentando

crecientemente desde P. Llorón < agropiro < sainfoin < alfalfa. Asimismo, el valor de “a” y “c” también fue aumentando en el mismo orden que la DE. Mientras que, el parámetro “b” fue mayor en gramíneas que leguminosas (71 vs 50%).

Por otro lado, analizando el factor Ambiente, se observan diferencias significativas en los parámetros c (P<0,01) y una tendencia en b (P=0,054). El parámetro “c”, es decir, la tasa de degradación de la fracción “b” fue un 20% mayor en el ambiente de sainfoin que en alfalfa.

Tabla 5. **Parámetros de degradabilidad ruminal y degradabilidad efectiva de especies forrajeras en ambientes ruminales contrastantes.**

Parámetro	Ambiente ruminal (n=8)			Especie (n=4)					P-valor		
	Sainfoin	Alfalfa	EE	P. Llorón	Agropiro	Sainfoin	Alfalfa	EE	Ambiente	Especie	A x E
a, % <sup>1</sup>	22,3	22,8	0,38	11,1 a	16,8 b	27,9 c	34,5 d	0,53	0,394	<0,001	0,471
b, % <sup>1</sup>	58,0	63,3	1,65	68,4 a	73,8 a	54,6 b	45,8 b	2,34	0,054	<0,001	0,335
c, %/h <sup>1</sup>	6,0 a	5,0 b	0,17	1,0 a	3,0 b	7,0 c	9,0 d	0,24	0,008	<0,001	0,797
DE, % <sup>2</sup>	58,9	58,4	0,62	39,8 a	58,7 b	66,8 c	69,2 c	0,87	0,565	<0,001	0,520

1. a= fracción soluble; b=fracción insoluble, potencialmente degradable; c= tasa de degradación de b (%/h)

2. Degradabilidad Efectiva a una tasa de pasaje de 3% para sainfoin y alfalfa y 1,84% para P. llorón y agropiro

## Discusión

### **Desaparición ruminal de la materia seca (DRMS)**

Las leguminosas alcanzaron el plateau a partir de las 24 h (ambos ambientes), mientras que, las gramíneas no lo hicieron aún luego de 72 h de incubación. Esto indicaría que en agropiro y pasto llorón se requiere mayores tiempos de exposición al rumen para alcanzar el plateau. Posiblemente se hubiera logrado con tiempos de exposición de 96 h. En el presente estudio el tiempo máximo de exposición fue de 72 h.

En general, el forraje alfalfa muestra la mayor degradabilidad en ambos ambientes ruminales para todos los horarios. Los valores de degradabilidad de la MS de alfalfa y sainfoin fueron similares a partir de 24 h en ambiente ruminal de alfalfa y 12 h en ambiente de sainfoin. La alfalfa y sainfoin fueron las forrajeras de mayor DE, y fracción soluble (parámetro "a"), y con el menor valor de (parámetro "b") fracción insoluble, potencialmente degradable. Los valores obtenidos de la fracción soluble para las leguminosas en el presente ensayo, resultaron semejantes al 35,7% obtenido por Díaz (1998) para otra leguminosa (*Vicia sativa*) en un estado fenológico equivalente. Respecto a pasto llorón, los valores encontrados de fracción soluble (12% en ambos ambientes ruminales) resultan prácticamente idénticos al 11,2 y 12,3% para tallo y hoja respectivamente obtenido en un estudio de Stritzler, *et al.* (2013), para una fecha de corte equivalente.

Respecto del parámetro "b" (fracción insoluble, potencialmente degradable) encontramos que las especies que tienen el mayor valor de "a", presentan un menor valor de "b". De este modo aceptamos parcialmente la hipótesis 1, ya que los forrajes con mayor contenido de fibra (FDN) fueron los que mostraron los menores valores en las fracciones solubles, pero los mayores valores de las fracciones potencialmente degradables. Notamos que, en ambos ambientes las gramíneas tuvieron valores de "a" de 10-20% mientras que, las leguminosas comienzan con valores más elevados, entre 30-40% aproximadamente. En general, las leguminosas mostraron cinéticas de degradación más similares entre sí que las gramíneas.

Tanto en el ambiente de alfalfa como sainfoin, el agropiro 1 en general obtuvo mayores valores de degradabilidad que agropiro 2. Posiblemente explicado porque agropiro 1 presenta menor contenido de FDA.

Estudiando los tipos de ambientes ruminales encontramos que hay una pequeña diferencia en la cinética de degradabilidad de las especies forrajeras. El valor "c" fue la única variable afectada por el ambiente ruminal. Observamos que, en el ambiente de sainfoin, el valor "c" aumenta levemente. El aumento en el valor "c" es indicativo de mejores condiciones ruminales para la degradación de la MS. Por lo tanto, podríamos aceptar parcialmente la hipótesis 2 que indica cambios en la cinética de degradabilidad de acuerdo al ambiente ruminal. Sin embargo la DE fue similar entre ambientes. Resta entender con claridad el motivo de dicho aumento en la tasa de degradabilidad y el rol que pudieran tener los taninos presentes, tanto en su composición como en cantidad.

### **Tasa de DRMS y DE**

En ambos ambientes las leguminosas exhibieron mayores tasas de DRMS respecto de las gramíneas. Hoffman *et al.*, (1993) y Balde *et al.*, (1993) coinciden en que leguminosas presentan mayor tasa de degradación de la MS con respecto a gramíneas. Esto se debe posiblemente, a que leguminosas presentan un mayor contenido de PB y menor FDN (Tabla 2).

El valor “c” de la ecuación de Ørskov y McDonald (1979) fue de 9, 7, 3 y 1%/h en Alfalfa, Sainfoin, Agropiro y Pasto llorón, respectivamente. Los valores de “a”, “b” y “c” obtenidos en alfalfa se encuentran dentro de los rangos reportados por Dutra da Silveira Ramos *et al.*, (1999) proveniente de diversos reportes [“a”=32 a 46%; “b”=33 a 46% y “c”=9 a 16%]. Por lo tanto, nos indica que se obtuvieron degradabilidades adecuadas para las especies forrajeras estudiadas.

Alfalfa y sainfoin obtuvieron mayores tasas en el horario de 3-6 h de incubación. Para el ambiente ruminal dominado por la presencia de alfalfa, una excepción fue la muestra de alfalfa 1 que a las 3-6 h mostró diferencia significativa con el resto de las leguminosas y similar valor que agropiro 1. Respecto a pasto llorón y agropiro mostraron variabilidad en sus tasas máximas y en diferentes horarios, agropiro obtuvo su máxima tasa DRMS en el horario 3-6 h y pasto llorón en 6-12 h con un valor menor.

En el ambiente de **sainfoin**, se observaron picos de tasas de degradación en diferentes períodos de tiempo para cada especie. La máxima tasa se alcanza primero en alfalfa, luego sainfoin, seguido por agropiro y pasto llorón. Las tasas alcanzadas por agropiro fueron similares entre ambientes con la diferencia que en ambiente sainfoin el valor máximo se alcanza más tarde, en el horario 6-12 h. A pesar de *O. viciifolia* tener un 30% menos de PB en la pastura, que da como resultado menor cantidad de N en el ambiente ruminal, en comparación con *M. sativa* (12,3% PB), los parámetros de cinética ruminal “a” y “b” fueron semejantes entre ambientes ruminales. Indicando que, el 8,6% PB de *O. viciifolia* en la pastura no resultó limitante para la degradación ruminal de la MS.

Las diferencias en DE (degradabilidad efectiva) entre especies forrajeras se deben principalmente a que las leguminosas presentan mayor fracción soluble “a” y tasa de degradación “c” que las gramíneas. Ambos parámetros son utilizados en la fórmula para el cálculo de la DE. En un trabajo de Dutra da Silveira Ramos *et al.*, (1999) se reporta un valor de DE para alfalfa de 55%, menor al reportado por el presente trabajo.

## Conclusiones

Cuando comparamos ambientes ruminales de alfalfa y sainfoin, encontramos que la desaparición de la materia seca está mucho más influenciada por el tipo de forraje consumido que por el ambiente ruminal. Podemos ordenar los forrajes en orden creciente de degradabilidad desde pasto llorón (menos degradable) < agropiro < sainfoin < alfalfa.

A pesar de no medir la concentración de taninos en el ambiente ruminal, no encontramos resultados consistentes que podrían indicar un cambio en los parámetros de cinética ruminal de la MS ni en la degradabilidad efectiva, por efecto de la utilización de *O. viciifolia* en relación a *M. sativa*. Por lo tanto, sería esperable desempeños similares cuando los animales utilicen dichas leguminosas en combinación con otra especie forrajera, al menos con estados avanzados de desarrollo de sainfoin donde el contenido de taninos y su actividad biológica pueden ser reducidos.

## **Bibliografía**

- Amela, M. I., 1997. Efectos de la adición de grasa de subproducto de matadero de aves en la alimentación de rumiantes. Tesis doctoral, Escola Técnica Superior D'Enginyeria Agrària, Universidad de Lleida.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1990). Official methods of analysis.
- Arroquy J.I., Coria M.L., Garcia A., Espinosa C. 2022. Producción de carne en cultivos de servicio según la fecha de siembra y especies. Comunicación. Rev. Arg. Prod. Anim. 42 (Supl. 1): 254.
- Balde, A. T., Vandersall, J. H., Erdman, R. A., Reeves III, J. B., y Glenn, B. P. 1993. Effect of stage of maturity of alfalfa and orchardgrass on in situ dry matter and crude protein degradability and amino acid composition. *Animal Feed Science and Technology*, 44(1-2), 29-43.
- Blanco, M., & Joy, M. 2021. Taninos condensados de la esparceta y su efecto sobre los parámetros de la fermentación ruminal. Influencia del estado fenológico y de la conservación. Revisión bibliográfica. Inf. téc. econ. agrar., (ART-2021-127359).
- Bueno, I. C., Brandi, R. A., Franzolin, R., Benetel, G., Fagundes, G. M., Abdalla, A. L., Lauvandini H. y Muir, J. P. 2015. In vitro methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species. *Animal Feed Science and Technology*, 205, 1-9.
- Carbonero, C. H., Mueller-Harvey, I., Brown, T. A., & Smith, L. 2011. Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*): a beneficial forage legume. *Plant Genetic Resources*, 9(1), 70-85.
- Delgado Enguita, I., Muñoz Pérez, F., Demdoun, S. F., Buil Moure, I., & Congost Luengo, S. (2008). La esparceta o pipirigallo.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W., 2020. InfoStat. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. [https://www.infostat.com.ar2\(2\)](https://www.infostat.com.ar2(2)), 499-503.
- Díaz, G. S. 1998. Valor nutritivo y degradabilidad ruminal de *avena sativa* y *vicia sativa*. *Pastos*, 28(1), 71-85.
- Dutra da Silveira Ramos, L. A., Machin Berro, N. N., y Irigoyen Tambucho, J. O. 1999. Evaluación nutricional de pasturas cultivadas: degradabilidad y digestibilidad intestinal de leguminosas y gramíneas período invierno-primavera. Tesis, Montevideo, Uruguay 120 pp.
- Elizondo-Salazar J. A. y Monge-Rojas C. R. 2020. Fistulación en bovinos y uso de la técnica de degradabilidad ruminal para análisis de alimentos. *Nutrición Animal Tropical* 14(2): 209-229.
- Fernández, H.H. 2004. Un procedimiento simple para estimar parámetros de funciones útiles en producción animal usando Solver de Excel. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol 24 (1-2), 75-81.
- Frutos, P., Hervás G., Giráldez F. J. y Mantecón A. R. 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2 (2), 191-202.
- García, M. 2015. Efecto de metabolitos secundarios sobre la fermentación ruminal in vitro e in vivo. Obtención de productos cárnicos resistentes a la oxidación. Doctoral thesis. Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina. 173 p.
- Hoffman, P. C., Sievert, S. J., Shaver, R. D., Welch, D. A., y Combs, D. K. 1993. In situ dry matter, protein, and fiber degradation of perennial forages. *Journal of Dairy Science*, 76(9), 2632-2643.
- Huyen, N. T., Fryganas, C., Uittenbogaard, G., Mueller-Harvey, I., Verstegen, M. W. A., Hendriks, W. H., & Pellikaan, W. F. (2016). Structural features of condensed tannins affect in vitro ruminal methane production and fermentation characteristics. *The Journal of Agricultural Science*, 154(8), 1474-1487.
- Kristensen, N. B., Engbæk, M., Vestergaard, M., & Harmon, D. L. (2010). Ruminal cannulation technique in young Holstein calves: Effects of cannulation on feed intake, body weight gain, and ruminal development at six weeks of age. *Journal of dairy science*, 93(2), 737-742.

- Makkar, H., Siddhuraju, P. y Becker, K. 2007. Tannins. In Plant secondary metabolites. Humana Press: 67-81.
- McMahon, L. R., McAllister, T. A., Berg, B. P., Majak, W., Acharya, S. N., Popp, J. D., ... & Cheng, K. J. (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80(3), 469-485.
- Mueller-Harvey, I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2010-2037.
- Niderkorn, V., Mueller-Harvey, I., Le Morvan, A., & Aufrère, J. (2012). Synergistic effects of mixing cocksfoot and sainfoin on in vitro rumen fermentation. Role of condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 178(1-2), 48-56.
- Nocek, J.E. 1985. Evaluation of specific variables affecting in situ estimates of ruminal dry matter and protein digestion. *J. Anim. Sci.* 60:1347.
- Ramos, G., Frutos, P., Giráldez, F. J., & Mantecón, Á. R. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros.
- Solano Vázquez, H. (1997). Efecto de diferentes concentraciones de Taninos sobre la flora microbiana ruminal y en la degradabilidad in vitro del forraje de alfalfa (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Stritzler, N., Rabortnikof, C. M., y Alvarez, L. E. 2013. Degradabilidad ruminal de Pasto llorón (*Eragrostis curvula* (sCHrad.) Nees) a lo largo de su ciclo anual en La Pampa. *Semiárida*, 22, 141-145.
- Van Soest P J, Robertson J B and Lewis B A 1991 Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. In: Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, Volume 74: 3583 – 3597.
- Waghorn, G. C., Douglas, G. B., Niezen, J. H., McNabb, W. C., & Foote, A. G. 1998. Forages with condensed tannins-their management and nutritive value for ruminants. In *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* (pp. 89-98).
- Willes, R. F. (1972). Permanently installed digestive cannulae. *Journal of dairy science*, 55(8), 1188-1190.

## Anexo figuras



Imagen 1. Vista general del ensayo. Ambas pasturas divididas por alambrado eléctrico.



Imagen 2. Corrales móviles para los dos animales en cada pastura.



Imagen 3. Vista de las pasturas al 22 de diciembre de 2022. Izquierda: Sainfoin. Derecha: alfalfa



Imagen 4. Molido de muestras de forraje utilizando molino Wiley (Thomas Wiley Scientific, Swedesboro, NJ. USA).

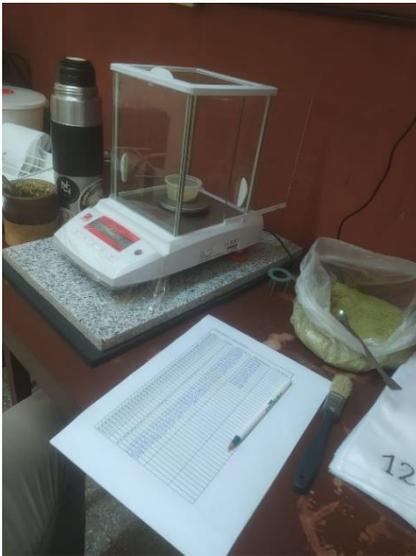


Imagen 5. Pesaje de material para colocar 5gr por bolsa.



Imagen 6. Sellado con calor para evitar pérdidas de material durante la incubación.



Imagen 7. Colocación de tacos en los diferentes tiempos de exposición de las muestras: 0, 3, 6, 12, 24, 48, y 72 h.



Imagen 8. Taco de goma portador de bolsas, cuyas medidas son 2,5 cm x 8 cm de diámetro.



Imagen 9. Bolsas agrupadas de a 17 (16 muestras de forraje + blanco) sujetadas con un precinto a un taco de goma.



Imagen 10. Soga cuyo extremo queda por fuera de la cánula, con el rótulo respectivo.



Imagen 11. Lavado de las bolsas con agua fría hasta que el agua saliera transparente.



Imagen 12. Bolsas colocadas en estufa a 60°C hasta peso constante.



Imagen 13. Líquido ruminal obtenido luego de sacar material del rumen (sólido + líquido) y escurrido en cuatro capas de gasa.



Imagen 14. PH tomado inmediatamente luego de sacar el líquido del rumen con un pH-metro (Altronix TP1A).

## Anexo tablas

### Desaparición ruminal de la materia seca (DRMS) acumulada

Tabla 6. Degradabilidad de la materia seca (DRMS, % MS) de cada recurso en diferentes ambientes ruminales y horario.

Ambiente	Recurso	Horario						
		0	3	6	12	24	48	72
Alfalfa	Agropiro 1	20,24	22,44	29,39	35,68	51,09	71,17	78,71
Alfalfa	Agropiro 2	18,21	19,85	24,92	30,92	45,92	67,24	73,77
Alfalfa	P. Llorón 1	12,32	14,44	16,25	21,19	29,05	44,37	51,65
Alfalfa	P. Llorón 2	11,96	13,44	15,31	20,39	27,92	42,87	52,42
Alfalfa	Alfalfa 1	37,22	40,10	48,41	66,13	75,42	77,38	78,15
Alfalfa	Alfalfa 2	38,49	40,97	53,63	68,77	78,09	79,29	79,56
Alfalfa	Sainfoin 1	31,62	33,28	45,65	58,42	76,58	81,17	82,60
Alfalfa	Sainfoin 2	31,89	33,42	44,57	60,58	76,92	80,16	80,64
Sainfoin	Agropiro 1	20,41	21,58	25,99	38,77	55,68	71,91	77,01
Sainfoin	Agropiro 2	18,19	18,73	22,68	32,39	50,41	65,99	74,26
Sainfoin	P. Llorón 1	13,16	13,33	14,89	21,27	32,31	44,17	53,48
Sainfoin	P. Llorón 2	12,47	12,62	14,40	19,55	33,67	43,84	54,07
Sainfoin	Alfalfa 1	37,83	40,17	52,64	71,94	75,50	77,04	78,92
Sainfoin	Alfalfa 2	38,79	40,87	54,90	69,98	79,81	80,23	81,41
Sainfoin	Sainfoin 1	32,25	34,22	44,31	65,61	73,39	78,79	82,83
Sainfoin	Sainfoin 2	31,69	35,68	45,28	67,52	74,91	79,05	81,19

Tabla 7. Resultados del análisis de varianza para la degradabilidad ruminal de la materia seca acumulada de las 8 fuentes de forraje evaluadas (4 especies x 2 orígenes) divididas en los horarios de exposición al rumen (0, 3, 6, 12, 24, 72 h) para dos ambientes ruminales diferentes (animales consumiendo alfalfa o sainfoin). Elaborado con Infostat.

#### Análisis de la varianza

Ambiente	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	DEGRADABILIDAD MS, %	224	0,98	0,98	7,19

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	120654,26	63	1915,15	166,58	<0,0001	
Especie	43858,04	7	6265,43	80,61	<0,0001	(Especie>Animal)
Especie>Animal	621,80	8	77,72	6,76	<0,0001	
horario	70481,76	6	11746,96	1021,77	<0,0001	
Especie*horario	5692,66	42	135,54	11,79	<0,0001	
Error	1839,48	160	11,50			
Total	122493,73	223				

Ambiente	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	DEGRADABILIDAD MS, %	224	0,99	0,99	4,69

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	122834,83	63	1949,76	386,55	<0,0001	
Especie	45049,51	7	6435,64	690,33	<0,0001	(Especie>Animal)
Especie>Animal	74,58	8	9,32	1,85	0,0718	
horario	72262,18	6	12043,70	2387,71	<0,0001	
Especie*horario	5448,55	42	129,73	25,72	<0,0001	
Error	807,05	160	5,04			
Total	123641,87	223				

### Modelo para el infostat: Particionando por ambiente y horario

#### Análisis de la varianza

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	0	DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,99	0,99	4,57

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3330,17	8	416,27	312,92	<0,0001
Especie	3287,10	7	469,59	352,99	<0,0001
Animal	43,07	1	43,07	32,38	<0,0001
Error	30,60	23	1,33		
Total	3360,77	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,71151

Error: 1,3303 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.	
P. Llorón 2	11,96	4	0,58	A
P. Llorón 1	12,32	4	0,58	A
Agropiro 2	18,21	4	0,58	B
Agropiro 1	20,24	4	0,58	B
Sainfoin 1	31,62	4	0,58	C
Sainfoin 2	31,89	4	0,58	C
Alfalfa 1	37,22	4	0,58	D
Alfalfa 2	38,49	4	0,58	D

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	3	DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,99	0,99	3,94

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3531,61	8	441,45	382,55	<0,0001
Especie	3440,80	7	491,54	425,96	<0,0001
Animal	90,81	1	90,81	78,69	<0,0001
Error	26,54	23	1,15		
Total	3558,15	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,52543

Error: 1,1540 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.	
P. Llorón 2	13,44	4	0,54	A
P. Llorón 1	14,44	4	0,54	A
Agropiro 2	19,85	4	0,54	B
Agropiro 1	22,44	4	0,54	C
Sainfoin 1	33,28	4	0,54	D
Sainfoin 2	33,42	4	0,54	D
Alfalfa 1	40,10	4	0,54	E
Alfalfa 2	40,97	4	0,54	E

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	6	DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,99	0,98	5,39

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6452,36	8	806,55	230,05	<0,0001
Especie	6414,83	7	916,40	261,39	<0,0001
Animal	37,53	1	37,53	10,71	0,0033
Error	80,64	23	3,51		
Total	6533,00	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,40187

Error: 3,5059 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.				
P. Llorón 2	15,31	4	0,94	A			
P. Llorón 1	16,25	4	0,94	A			
Agropiro 2	24,92	4	0,94		B		
Agropiro 1	29,39	4	0,94			C	
Sainfoin 2	44,57	4	0,94				D
Sainfoin 1	45,65	4	0,94				D
Alfalfa 1	48,41	4	0,94			D	
Alfalfa 2	53,63	4	0,94				E

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	12	DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,97	0,96	8,57

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12881,61	8	1610,20	107,07	<0,0001
Especie	11565,32	7	1652,19	109,86	<0,0001
Animal	1316,29	1	1316,29	87,53	<0,0001
Error	345,89	23	15,04		
Total	13227,51	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,11686

Error: 15,0388 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.				
P. Llorón 2	20,39	4	1,94	A			
P. Llorón 1	21,19	4	1,94	A			
Agropiro 2	30,92	4	1,94		B		
Agropiro 1	35,68	4	1,94		B		
Sainfoin 1	58,42	4	1,94			C	
Sainfoin 2	60,58	4	1,94			C	D
Alfalfa 1	66,13	4	1,94		C	D	
Alfalfa 2	68,77	4	1,94			D	

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	24	DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,99	0,99	4,08

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13656,10	8	1707,01	309,26	<0,0001
Especie	13385,06	7	1912,15	346,42	<0,0001
Animal	271,04	1	271,04	49,10	<0,0001
Error	126,95	23	5,52		
Total	13783,05	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,52330

Error: 5,5198 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.
---------	--------	---	------

P. Llorón 2	27,92	4	1,17	A		
P. Llorón 1	29,05	4	1,17	A		
Agropiro 2	45,92	4	1,17		B	
Agropiro 1	51,09	4	1,17		B	
Alfalfa 1	75,42	4	1,17		C	
Sainfoin 1	76,58	4	1,17			C
Sainfoin 2	76,92	4	1,17			C
Alfalfa 2	78,09	4	1,17			C

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	48	DEGRADABILIDAD MS, %	32	1,00	0,99	1,61

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6948,57	8	868,57	722,96	<0,0001
Especie	6948,10	7	992,59	826,18	<0,0001
Animal	0,47	1	0,47	0,39	0,5394
Error	27,63	23	1,20		
Total	6976,20	31			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,57682

Error: 1,2014 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.				
P. Llorón 2	42,87	4	0,55	A			
P. Llorón 1	44,37	4	0,55	A			
Agropiro 2	67,24	4	0,55		B		
Agropiro 1	71,17	4	0,55			C	
Alfalfa 1	77,38	4	0,55			D	
Alfalfa 2	79,29	4	0,55			D	E
Sainfoin 2	80,16	4	0,55				E
Sainfoin 1	81,17	4	0,55				E

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	72	DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,99	0,98	2,17

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4516,80	8	564,60	229,86	<0,0001
Especie	4509,49	7	644,21	262,27	<0,0001
Animal	7,32	1	7,32	2,98	0,0978
Error	56,49	23	2,46		
Total	4573,30	31			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,68447

Error: 2,4563 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.				
P. Llorón 1	51,65	4	0,78	A			
P. Llorón 2	52,42	4	0,78	A			
Agropiro 2	73,77	4	0,78		B		
Alfalfa 1	78,15	4	0,78		C		
Agropiro 1	78,71	4	0,78			C	
Alfalfa 2	79,56	4	0,78		C	D	
Sainfoin 2	80,64	4	0,78			C	D
Sainfoin 1	82,60	4	0,78				D

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	0	DEGRADABILIDAD MS, %	32	1,00	1,00	2,71

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
------	----	----	----	---	---------

Modelo	3260,02	8	407,50	847,49	<0,0001
Especie	3255,66	7	465,09	967,26	<0,0001
Animal	4,36	1	4,36	9,06	0,0062
Error	11,06	23	0,48		
Total	3271,08	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,63018**

Error: 0,4808 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.			
P. Llorón 2	12,47	4	0,35	A		
P. Llorón 1	13,16	4	0,35	A		
Agropiro 2	18,19	4	0,35		B	
Agropiro 1	20,41	4	0,35			C
Sainfoin 2	31,69	4	0,35			D
Sainfoin 1	32,25	4	0,35			D
Alfalfa 1	37,83	4	0,35			E
Alfalfa 2	38,79	4	0,35			E

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	3	DEGRADABILIDAD MS, %	32	1,00	1,00	2,88

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3971,01	8	496,38	809,89	<0,0001
Especie	3938,77	7	562,68	918,07	<0,0001
Animal	32,24	1	32,24	52,61	<0,0001
Error	14,10	23	0,61		
Total	3985,11	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,84048**

Error: 0,6129 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.			
P. Llorón 2	12,62	4	0,39	A		
P. Llorón 1	13,33	4	0,39	A		
Agropiro 2	18,73	4	0,39		B	
Agropiro 1	21,58	4	0,39			C
Sainfoin 1	34,22	4	0,39			D
Sainfoin 2	35,68	4	0,39			D
Alfalfa 1	40,17	4	0,39			E
Alfalfa 2	40,87	4	0,39			E

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	6	DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,98	0,97	7,67

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7882,47	8	985,31	141,56	<0,0001
Especie	7832,46	7	1118,92	160,75	<0,0001
Animal	50,00	1	50,00	7,18	0,0134
Error	160,09	23	6,96		
Total	8042,56	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,20240**

Error: 6,9605 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.			
P. Llorón 2	14,40	4	1,32	A		
P. Llorón 1	14,89	4	1,32	A		
Agropiro 2	22,68	4	1,32		B	
Agropiro 1	25,99	4	1,32		B	
Sainfoin 1	44,31	4	1,32			C
Sainfoin 2	45,28	4	1,32			C

Alfalfa 1	52,64	4	1,32	D
Alfalfa 2	54,90	4	1,32	D

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin 12		DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,98	0,97	7,49

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14420,62	8	1802,58	137,15	<0,0001
Especie	14395,88	7	2056,55	156,47	<0,0001
Animal	24,75	1	24,75	1,88	0,1833
Error	302,30	23	13,14		
Total	14722,92	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,52303

Error: 13,1435 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.		
P. Llorón 2	19,55	4	1,81	A	
P. Llorón 1	21,27	4	1,81	A	
Agropiro 2	32,39	4	1,81		B
Agropiro 1	38,77	4	1,81		B
Sainfoin 1	65,61	4	1,81		C
Sainfoin 2	67,52	4	1,81		C
Alfalfa 2	69,98	4	1,81		C
Alfalfa 1	71,94	4	1,81		C

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin 24		DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,99	0,99	3,34

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10420,49	8	1302,56	330,62	<0,0001
Especie	10412,18	7	1487,45	377,55	<0,0001
Animal	8,31	1	8,31	2,11	0,1600
Error	90,62	23	3,94		
Total	10511,10	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,66633

Error: 3,9398 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.		
P. Llorón 1	32,31	4	0,99	A	
P. Llorón 2	33,67	4	0,99	A	
Agropiro 2	50,41	4	0,99		B
Agropiro 1	55,68	4	0,99		C
Sainfoin 1	73,39	4	0,99		D
Sainfoin 2	74,91	4	0,99		D
Alfalfa 1	75,50	4	0,99		D
Alfalfa 2	79,81	4	0,99		E

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin 48		DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,98	0,98	3,21

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6570,35	8	821,29	174,66	<0,0001
Especie	6557,14	7	936,73	199,21	<0,0001
Animal	13,22	1	13,22	2,81	0,1072
Error	108,15	23	4,70		

Total 6678,51 31

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,09795**

Error: 4,7023 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.			
P. Llorón 2	43,84	4	1,08	A		
P. Llorón 1	44,17	4	1,08	A		
Agropiro 2	65,99	4	1,08		B	
Agropiro 1	71,91	4	1,08			C
Alfalfa 1	77,04	4	1,08			D
Sainfoin 1	78,79	4	1,08			D
Sainfoin 2	79,05	4	1,08			D
Alfalfa 2	80,23	4	1,08			D

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

Ambiente	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	72	DEGRADABILIDAD MS, %	32	0,99	0,98	2,03

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4118,11	8	514,76	235,36	<0,0001
Especie	4105,98	7	586,57	268,20	<0,0001
Animal	12,13	1	12,13	5,55	0,0274
Error	50,30	23	2,19		
Total	4168,41	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,47674**

Error: 2,1871 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.				
P. Llorón 1	53,48	4	0,74	A			
P. Llorón 2	54,07	4	0,74	A			
Agropiro 2	74,26	4	0,74		B		
Agropiro 1	77,01	4	0,74		B	C	
Alfalfa 1	78,92	4	0,74		C	D	
Sainfoin 2	81,19	4	0,74				D E
Alfalfa 2	81,41	4	0,74			D	E
Sainfoin 1	82,83	4	0,74				E

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

### Tasa de DRMS

**Tabla 8. Tasa de degradabilidad de la materia seca (% MS/hora) de cada recurso forrajero en diferentes ambientes ruminales y período horario.**

Ambiente	Recurso	Período horario					
		0 - 3 hs	3 - 6 hs	6 - 12 hs	12 - 24 hs	24 - 48 hs	48 - 72 hs
Alfalfa	Agropiro 1	0,73	2,32	1,05	1,28	0,84	0,31
Alfalfa	Agropiro 2	0,54	1,69	1,00	1,25	0,89	0,27
Alfalfa	P. Llorón 1	0,71	0,60	0,82	0,65	0,64	0,30
Alfalfa	P. Llorón 2	0,50	0,62	0,85	0,63	0,62	0,40
Alfalfa	Alfalfa 1	0,96	2,77	2,95	0,77	0,08	0,03
Alfalfa	Alfalfa 2	0,82	4,22	2,52	0,78	0,05	0,01
Alfalfa	Sainfoin 1	0,55	4,12	2,13	1,51	0,19	0,06
Alfalfa	Sainfoin 2	0,51	3,72	2,67	1,36	0,13	0,02
Sainfoin	Agropiro 1	0,39	1,47	2,13	1,41	0,68	0,21
Sainfoin	Agropiro 2	0,18	1,32	1,62	1,50	0,65	0,34
Sainfoin	P. Llorón 1	0,06	0,52	1,06	0,92	0,49	0,39
Sainfoin	P. Llorón 2	0,05	0,59	0,86	1,18	0,42	0,43

Sainfoin	Alfalfa 1	0,78	4,16	3,22	0,30	0,06	0,08
Sainfoin	Alfalfa 2	0,69	4,67	2,51	0,82	0,02	0,05
Sainfoin	Sainfoin 1	0,66	3,36	3,55	0,65	0,22	0,17
Sainfoin	Sainfoin 2	1,33	3,20	3,71	0,62	0,17	0,09

Tabla 9. Resultados del análisis de varianza para la tasa degradabilidad ruminal de la materia seca acumulada de las 8 fuentes de forraje evaluadas (4 especies x 2 orígenes) en los períodos horarios de exposición al rumen (0-3; 3-6; 6-12; 12-24; 24-48 y 48-72 hs) para dos ambientes ruminales diferentes (animales consumiendo alfalfa o sainfoin). Elaborado con Infostat.

#### Análisis de la varianza

Ambiente ruminal	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	Tasa DRMS	192	0,66	0,53	82,41

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	216,44	55	3,94	4,85	<0,0001	
Especie	19,62	7	2,80	91,40	<0,0001	(Especie>Animal)
Especie>Animal	0,25	8	0,03	0,04	>0,9999	
horario	124,72	5	24,94	30,73	<0,0001	
Especie*horario	71,85	35	2,05	2,53	0,0001	
Error	110,41	136	0,81			
Total	326,85	191				

Ambiente ruminal	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	Tasa DRMS	192	0,83	0,76	58,36

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo	281,14	55	5,11	11,88	<0,0001	
Especie	26,24	7	3,75	27,03	0,0001	(Especie>Animal)
Especie>Animal	1,11	8	0,14	0,32	0,9564	
horario	158,65	5	31,73	73,73	<0,0001	
Especie*horario	95,14	35	2,72	6,32	<0,0001	
Error	58,53	136	0,43			
Total	339,66	191				

### Modelo para el infostat: Particionando por ambiente y horario

#### Análisis de la varianza

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	0	Tasa DRMS	32	0,29	0,05	64,60

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,77	8	0,22	1,20	0,3437
Especie	0,79	7	0,11	0,61	0,7399
Animal	0,98	1	0,98	5,29	0,0309
Error	4,26	23	0,19		
Total	6,03	31			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,01125

Error: 0,1850 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.
P. Llorón 2	0,50	4	0,22
Sainfoin B	0,51	4	0,22
Agropiro 2	0,54	4	0,22

Sainfoin A	0,55	4	0,22	A
P. Llorón 1	0,71	4	0,22	A
Agropiro 1	0,73	4	0,22	A
Alfalfa B	0,82	4	0,22	A
Alfalfa A	0,96	4	0,22	A

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	3	Tasa DRMS	32	0,93	0,91	21,14

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	87,12	8	10,89	38,75	<0,0001
Especie	59,88	7	8,55	30,44	<0,0001
Animal	27,23	1	27,23	96,91	<0,0001
Error	6,46	23	0,28		
Total	93,58	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,24624

Error: 0,2810 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.				
P. Llorón 1	0,60	4	0,27	A			
P. Llorón 2	0,62	4	0,27	A			
Agropiro 2	1,69	4	0,27	A	B		
Agropiro 1	2,32	4	0,27		B		
Alfalfa A	2,77	4	0,27	B	C		
Sainfoin B	3,72	4	0,27			C	D
Sainfoin A	4,12	4	0,27				D
Alfalfa B	4,22	4	0,27				D

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	6	Tasa DRMS	32	0,85	0,80	42,72

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	73,01	8	9,13	16,35	<0,0001
Especie	23,05	7	3,29	5,90	0,0005
Animal	49,95	1	49,95	89,48	<0,0001
Error	12,84	23	0,56		
Total	85,85	31			

#### Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,75658

Error: 0,5583 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.				
P. Llorón 1	0,82	4	0,37	A			
P. Llorón 2	0,85	4	0,37	A			
Agropiro 2	1,00	4	0,37	A	B		
Agropiro 1	1,05	4	0,37	A	B		
Sainfoin A	2,13	4	0,37	A	B	C	
Alfalfa B	2,52	4	0,37	A	B	C	
Sainfoin B	2,67	4	0,37		B	C	
Alfalfa A	2,95	4	0,37			C	

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	12	Tasa DRMS	32	0,54	0,38	46,71

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,29	8	0,79	3,39	0,0102
Especie	3,56	7	0,51	2,20	0,0731
Animal	2,73	1	2,73	11,77	0,0023
Error	5,33	23	0,23		
Total	11,62	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,13159**

Error: 0,2317 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.	
P. Llorón 2	0,63	4	0,24	A
P. Llorón 1	0,65	4	0,24	A
Alfalfa A	0,77	4	0,24	A
Alfalfa B	0,78	4	0,24	A
Agropiro 2	1,25	4	0,24	A
Agropiro 1	1,28	4	0,24	A
Sainfoin B	1,36	4	0,24	A
Sainfoin A	1,51	4	0,24	A

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	24	Tasa DRMS	32	0,92	0,89	29,14

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,90	8	0,49	30,96	<0,0001
Especie	3,47	7	0,50	31,46	<0,0001
Animal	0,43	1	0,43	27,47	<0,0001
Error	0,36	23	0,02		
Total	4,26	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,29491**

Error: 0,0157 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.	
Alfalfa B	0,05	4	0,06	A
Alfalfa A	0,08	4	0,06	A
Sainfoin B	0,13	4	0,06	A
Sainfoin A	0,19	4	0,06	A
P. Llorón 2	0,62	4	0,06	B
P. Llorón 1	0,64	4	0,06	B
Agropiro 1	0,84	4	0,06	B
Agropiro 2	0,89	4	0,06	B

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
alfalfa	48	Tasa DRMS	32	0,93	0,91	27,46

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,74	8	0,09	39,35	<0,0001
Especie	0,72	7	0,10	43,75	<0,0001
Animal	0,02	1	0,02	8,50	0,0078
Error	0,05	23	2,3E-03		
Total	0,79	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,11381**

Error: 0,0023 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.	
Alfalfa B	0,01	4	0,02	A

Sainfoin B	0,02	4	0,02	A		
Alfalfa A	0,03	4	0,02	A		
Sainfoin A	0,06	4	0,02	A		
Agropiro 2	0,27	4	0,02		B	
P. Llorón 1	0,30	4	0,02		B	C
Agropiro 1	0,31	4	0,02		B	C
P. Llorón 2	0,40	4	0,02			C

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	0	Tasa DRMS	32	0,78	0,71	55,39

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,80	8	0,85	10,34	<0,0001
Especie	5,37	7	0,77	9,33	<0,0001
Animal	1,43	1	1,43	17,44	0,0004
Error	1,89	23	0,08		
Total	8,69	31			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,67386

Error: 0,0822 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.			
P. Llorón 2	0,05	4	0,14	A		
P. Llorón 1	0,06	4	0,14	A		
Agropiro 2	0,18	4	0,14	A	B	
Agropiro 1	0,39	4	0,14	A	B	
Sainfoin A	0,66	4	0,14	A	B	
Alfalfa B	0,69	4	0,14	A	B	C
Alfalfa A	0,78	4	0,14		B	C
Sainfoin B	1,33	4	0,14			C

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	3	Tasa DRMS	32	0,84	0,79	35,88

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	92,70	8	11,59	15,48	<0,0001
Especie	74,64	7	10,66	14,24	<0,0001
Animal	18,06	1	18,06	24,12	0,0001
Error	17,22	23	0,75		
Total	109,92	31			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,03421

Error: 0,7487 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.				
P. Llorón 1	0,52	4	0,43	A			
P. Llorón 2	0,59	4	0,43	A			
Agropiro 2	1,32	4	0,43	A	B		
Agropiro 1	1,47	4	0,43	A	B	C	
Sainfoin B	3,20	4	0,43		B	C	D
Sainfoin A	3,36	4	0,43			C	D
Alfalfa A	4,16	4	0,43				D
Alfalfa B	4,67	4	0,43				D

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
------------------	---------	----------	---	----------------	-------------------	----

Sainfoin	6	Tasa DRMS	32	0,67	0,55	36,99
----------	---	-----------	----	------	------	-------

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	34,20	8	4,28	5,74	0,0004
Especie	34,08	7	4,87	6,54	0,0003
Animal	0,12	1	0,12	0,16	0,6892
Error	17,12	23	0,74		
Total	51,32	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,02826**

Error: 0,7443 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.			
P. Llorón 2	0,86	4	0,43	A		
P. Llorón 1	1,06	4	0,43	A		
Agropiro 2	1,62	4	0,43	A	B	
Agropiro 1	2,13	4	0,43	A	B	C
Alfalfa B	2,51	4	0,43	B	B	C
Alfalfa A	3,22	4	0,43	B	C	
Sainfoin A	3,55	4	0,43		B	C
Sainfoin B	3,71	4	0,43			C

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	12	Tasa DRMS	32	0,66	0,54	37,46

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,26	8	0,66	5,49	0,0006
Especie	4,83	7	0,69	5,77	0,0006
Animal	0,43	1	0,43	3,58	0,0711
Error	2,75	23	0,12		
Total	8,01	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,81340**

Error: 0,1197 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.			
Alfalfa A	0,30	4	0,17	A		
Sainfoin B	0,62	4	0,17	A	B	
Sainfoin A	0,65	4	0,17	A	B	
Alfalfa B	0,82	4	0,17	A	B	C
P. Llorón 1	0,92	4	0,17	A	B	C
P. Llorón 2	1,18	4	0,17		B	C
Agropiro 1	1,41	4	0,17		B	C
Agropiro 2	1,50	4	0,17			C

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Sainfoin	24	Tasa DRMS	32	0,82	0,76	39,90

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,92	8	0,24	13,01	<0,0001
Especie	1,84	7	0,26	14,30	<0,0001
Animal	0,07	1	0,07	4,00	0,0573
Error	0,42	23	0,02		
Total	2,34	31			

**Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,31907**

Error: 0,0184 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.					
Alfalfa B	0,02	4	0,07	A				
Alfalfa A	0,06	4	0,07	A				
Sainfoin B	0,17	4	0,07	A	B			
Sainfoin A	0,22	4	0,07	A	B	C		
P. Llorón 2	0,42	4	0,07		B	C	D	
P. Llorón 1	0,49	4	0,07			C	D	
Agropiro 2	0,65	4	0,07				D	
Agropiro 1	0,68	4	0,07				D	

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

Ambiente ruminal	horario	Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	
Sainfoin	48	Tasa DRMS	32	0,85	0,80	31,40	

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,62	8	0,08	16,32	<0,0001
Especie	0,62	7	0,09	18,65	<0,0001
Animal	4,0E-05	1	4,0E-05	0,01	0,9276
Error	0,11	23	4,8E-03		
Total	0,73	31			

#### Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16208

Error: 0,0048 gl: 23

Especie	Medias	n	E.E.					
Alfalfa B	0,05	4	0,03	A				
Alfalfa A	0,08	4	0,03	A	B			
Sainfoin B	0,09	4	0,03	A	B			
Sainfoin A	0,17	4	0,03	A	B			
Agropiro 1	0,21	4	0,03		B	C		
Agropiro 2	0,34	4	0,03			C	D	
P. Llorón 1	0,39	4	0,03				D	
P. Llorón 2	0,43	4	0,03				D	

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