

54  
2a



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**Estudio in vitro de la dinámica de fijación del fósforo en  
solución sobre la alfalfa (Medicago sativa) no digerida  
y digerida en el rumen.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A:**

**EUGENIA PATRICIA CHAVEZ ALONSO**

**Asesores: M. V. Z. Jaime Romero-Paredes Rubio  
Dr. Marcelo E. Pérez Domínguez**

**MEXICO, D. F.**

**1988**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN . . . . .	1
INTRODUCCION . . . . .	2
MATERIAL Y METODOS . . . . .	8
RESULTADOS . . . . .	12
DISCUSION . . . . .	15
CUADROS Y GRAFICAS . . . . .	18
LITERATURA CITADA . . . . .	43

## R E S U M E N

CHAVEZ ALONSO EUGENIA PATRICIA. Estudio *in vitro* de la dinámica de fijación del fósforo en solución sobre la alfalfa (*Medicago sativa*) no digerida y digerida en el rumen. (Bajo la dirección de Jaime Romero-Paredes R. y Marcelo Pérez D.)

La disponibilidad biológica de un elemento mide la disponibilidad de un elemento de un alimento para ser utilizado por algún organismo vivo en procesos fisiológicos. Algunos investigadores reportan valores negativos de digestibilidad para fósforo. En este trabajo se pretendió probar que hay fijación de fósforo del medio hacia la muestra y que estará afectada por el tipo de solución utilizada en la incubación (fluido ruminal y agua deionizada); el tiempo de predigestión ruminal de la alfalfa (0,6,12,18 y 24 hs); la concentración de fósforo soluble en el medio (0,09,0,19,0,29 y 0,39 mg/ml) y, el tiempo de incubación (3,24,48 y 96 hs). Los resultados muestran que hay mayor concentración de fósforo en las muestras de alfalfa que tuvieron los mayores tiempos de predigestión ruminal, las que se incubaron con líquido ruminal, las que tuvieron niveles 3 y 4 de fósforo y las que tuvieron menor tiempo de incubación *in vitro*. Se obtuvieron resultados que indican fijación de fósforo del medio hacia la muestra en incubaciones de 24 hs con líquido ruminal de muestras de 24 hs de predigestión ruminal con los 4 niveles de fósforo. Por lo que esta variabilidad en biodisponibilidad debe tomarse en cuenta al evaluar y formular suplementos.

## INTRODUCCION

La desnutrición es comúnmente aceptada como una de las limitaciones más importantes que reducen el índice de desarrollo y producción del ganado de grandes zonas del mundo (13, 26). La insuficiencia de energía y proteína es a menudo responsable de la producción animal subóptima, sin embargo muchos investigadores han observado deterioro en la producción del ganado a pesar de la abundancia de alimentos (13). Algunos elementos minerales son esenciales para el crecimiento, conservación, reproducción y funcionamiento de los tejidos corporales. Un gran porcentaje de los animales de diversas partes del mundo consumen raciones que no cubren sus necesidades de minerales de un modo óptimo.

Generalmente existe un margen bastante amplio entre las cantidades óptimas y los niveles que determinan la aparición de síndromes por deficiencias de nutrimentos (26). Las deficiencias severas pueden tener consecuencias económicas graves y provocar un notable descenso de la productividad animal, por lo que se vuelve urgente buscar remedios o medidas preventivas. Sin embargo algunas veces ésta deficiencia no es suficientemente intensa para que reclame atención pero que sí se refleja en la productividad. Las pérdidas económicas por deficiencias nutricionales subclínicas en animales domésticos son bastante mayores que las pérdidas totales provocadas por deficiencias clínicas (13, 26).

Los minerales que se requieren en mayor proporción en la nutrición animal son fósforo, calcio, magnesio, sodio y potasio. Cierta nivel de estos elementos están presentes naturalmente en muchos alimentos. Además también son adicionados en la dieta para balancear los requerimientos de los animales (16). El ganado en pastoreo a menudo no recibe suplementación salvo cloruro de sodio y dependen exclusivamente de los forrajes para cubrir sus requerimientos. Sin embargo algunas veces los forrajes no pueden satisfacer todos los requerimientos de minerales (13, 17). Se ha demostrado que los forrajes con bajo nivel de proteína o un alto nivel de lignina son mal consumidos por los animales y por lo tanto son reponsables de deficiencias de minerales (10, 13).

Las concentraciones de minerales en forrajes dependen de la interacción de varios factores, entre los cuales se incluye la naturaleza del suelo; la especie, variedad, etapa de madurez y rendimiento de la planta; factores climáticos; aporte de agua; fertilización; enfermedades y pérdidas debidas a insectos y manejo durante la cosecha y almacenamiento (2, 13, 21).

El fósforo en los rumiantes es un elemento extremadamente importante para el metabolismo adecuado y salud de la microflora ruminal. Por lo tanto en los rumiantes deben ser considerados dos tipos de requerimientos de fósforo (el del animal mismo y el de los microorganismos del rumen) (23).

El 80% del fósforo del cuerpo se encuentra en los

huesos y dientes y el 20% restante está distribuido ampliamente en los tejidos suaves, especialmente en los glóbulos rojos y en el tejido nervioso y muscular. Además el fósforo es esencial para la utilización de la energía de los alimentos; como amortiguador de la sangre y otros fluidos; en muchos sistemas enzimáticos; en el metabolismo de las proteínas y para el desarrollo adecuado de los microorganismos del rumen que digieren la celulosa vegetal (13, 23).

Los minerales en la ingesta se encuentran en tres formas: como iones metálicos en solución, como componentes de complejos metalo-orgánicos en solución o como componentes de sustancias insolubles. Aquellos que se encuentran en la primera forma son fácilmente absorbidos (es decir, biodisponibles), y aquellos en la tercera forma no son absorbidos (12).

En general, la disponibilidad de un elemento dependerá de su solubilidad en el fluido ruminal y de su liberación del alimento durante la digestión de tal manera que pueda ser absorbido en el tracto digestivo (9, 18).

En el estudio del metabolismo mineral tiene muy poco significado el contenido total de un mineral en un compuesto particular o en una ración completa, a menos de que éste sea calificado con un factor que indique su disponibilidad biológica. En otras palabras, los análisis químicos indican en qué cantidad está presente un determinado nutriente pero no indican en qué grado es utilizado éste al ser consumido.

por el animal. Ningún elemento puede ser completamente absorbido y utilizado; siempre existirá una pérdida parcial en los procesos normales metabólicos y nutricionales (16).

La disponibilidad biológica de un mineral mide la disponibilidad de un elemento para ser utilizado por algún organismo vivo en procesos fisiológicos (13, 26).

Algunos de los factores que tienen influencia en la utilización del fósforo en las diferentes especies animales son: sexo, estado nutricional, edad, raza, tipo y nivel de producción y la adaptación de animal al medio ambiente; el tipo de alimento, los niveles de proteína y energía, elementos traza y agentes kelógenos, la naturaleza física de las fuentes de fósforo y otros ingredientes de la dieta, procesamiento del alimento, la relación calcio-fósforo, nivel y forma química del elemento en el alimento (13, 16).

La falta de liberación de un elemento de un alimento indigestible podría ser causado por la unión química del elemento a una molécula o una porción de fibra no digerida o ausencia de gradiente de concentración entre los residuos y el fluido ruminal (18). Se han realizado muchas investigaciones para medir la digestibilidad de los alimentos para animales. Las pruebas de digestión son el método principal para determinar el valor nutritivo de los forrajes *in vitro* e *in vivo*. Así mismo se han hecho trabajos para correlacionar los valores obtenidos en pruebas de digestibilidad *in vivo* con una variedad de métodos de laboratorio *in vitro* (3, 15).

Muchas pruebas de digestión son difíciles por el tiempo



y costo que requieren para realizarlas, consecuentemente se han desarrollado técnicas de digestibilidad de forrajes utilizando la bolsa de nylon en animales a los que se les realizó una fistula ruminal (4). Esta técnica constituye un método fácil y rápido para establecer en qué proporción los constituyentes de los alimentos son degradados por la fermentación en el rumen (14, 15). Con este método se han hecho investigaciones para medir la disponibilidad biológica de minerales (6, 18, 19, 22).

Algunos investigadores han reportado que la concentración de algunos elementos se incrementa en la ingesta durante las últimas etapas de su digestión ruminal como en el caso del fósforo (18, 22). El incremento en la concentración del fósforo aunado a la digestión continua de las paredes celulares, significa que el elemento no está asociado a la digestión de las paredes celulares y que por lo tanto puede fijarse a la fracción no digestible de la ingesta, o bien deberse a la presencia de bacterias fuertemente adheridas a los residuos y que no son removidas durante el lavado de las muestras al finalizar la digestión (16).

## HIPOTESIS

Existe fijación de fósforo del medio de incubación hacia la muestra de alfalfa, y ésta fijación estará afectada por los siguientes factores: el tiempo de predigestión ruminal de la alfalfa, la concentración de fósforo soluble en el medio, el tiempo de incubación y, la utilización de fluido ruminal o agua deionizada.

## OBJETIVOS

Establecer el efecto de los factores que a continuación se enlistan sobre la concentración de fósforo en la alfalfa incubada in vitro para determinar el valor nutritivo de la alfalfa:

- 1.- El tiempo de predigestión ruminal de la alfalfa.
- 2.- La concentración de fósforo soluble en el medio.
- 3.- El tiempo de incubación.
- 4.- El tipo de líquido (fluido ruminal o agua deionizada).

## MATERIAL Y METODOS

### Localización geográfica.

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del laboratorio de minerales del departamento de Ruminología Básica del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Unidad Central, de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, km 15.5 carretera México-Toluca, Faló Alto, D.F., localizado a 19- 29' 40" de latitud norte y 99- 15' 69" de longitud oeste. La altura sobre el nivel del mar es de 2 742 m. con una precipitación pluvial media anual de 950 mm.

### Animales y dieta.

Se utilizaron 6 borregos pelibuey con un peso promedio de 40 kg a los que se les realizó un fistula en el rumen y se les colocó una cánula flexible (7, 20). Durante un primer periodo de 20 días fueron alimentados con dieta de mantenimiento (cuadro 1). En un segundo periodo de 20 días a éstos mismos animales se les dió como dieta única alfalfa achicalada (Medicago sativa). En los dos periodos los animales tuvieron dieta ad libitum (20).

### Colección de muestras.

El fluido ruminal se obtuvo a través de la fistula ruminal durante el primer periodo. En el segundo periodo se tomaron muestras de alfalfa achicalada (Medicago sativa) antes de ser administrada y de ingesta de alfalfa a las 6,

12, 18 y 24 h post-alimentación.

#### Preparación y tratamiento de las muestras.

Las muestras de ingesta y de alfalfa se lavaron perfectamente 3 veces con agua deionizada. Se dejaron secar a temperatura ambiente durante 48 h, después se secaron en una "estufa de aire forzado" a 50 C durante 24 h. Posteriormente se molieron en un molino "Thomas Wiley" modelo No.4 con una criba de 2 mm y se procesaron según el método descrito por Juárez et al (1985) para determinar la concentración de fósforo (8, 29).

El fluido ruminal se centrifugó a 30 000xg durante 30 minutos para eliminar la mayor parte de microorganismos y sólidos; enseguida en condiciones estériles se pasó a través de un filtro Millipore QSWP con diámetro de 25 mm y poro de 0.22  $\mu$  y se recibió en recipientes de vidrio estériles (10, 25). Se determinó la concentración de minerales según el método mencionado y sin llevar a cabo la digestión de la muestra (8). Posteriormente se almacenó en congelación hasta el momento de ser utilizado en las pruebas.

#### Incubación in vitro.

Se utilizaron frascos con capacidad de 3 ml a los que se les agregaron 2 ml del líquido a prueba y 0.1 g de muestra de ingesta o alfalfa (a la cual se denominará "alfalfa con 0 h de digestión"). Se mantuvieron en incubación en "Baño maría" con agitación constante a temperatura de 39 C. Cada tratamiento se hizo por triplicado.

#### Líquidos o soluciones utilizadas en el experimento.

Para la incubación *in vitro* se prepararon cuatro soluciones con líquido ruminal y otras cuatro con agua deionizada. A estas soluciones se les agregaron sales de potasio monobásico como fuente de fósforo para tener las siguientes concentraciones:

nivel 1 = 0.0978 mg/ml

nivel 2 = 0.1956 mg/ml

nivel 3 = 0.2935 mg/ml

nivel 4 = 0.3913 mg/ml

de manera que se obtuvieron 8 soluciones de la siguiente forma:

Tipo de solución	Nivel de fósforo			
	1	2	3	4
-----	-----	-----	-----	-----
Agua deionizada	a	b	c	d
Líquido ruminal	e	f	g	h

#### Tratamientos.

Cada una de las muestras de ingesta y alfalfa sin digerir se sometieron a incubación durante 3, 24, 48 y 96 h en los tratamientos que aparecen en el cuadro 4.

#### Análisis estadístico.

Para este experimento se empleó un diseño completamente al azar, en un arreglo factorial 2 x 4 x 4 x 5; 2 líquidos, 4 tiempos de incubación, 4 niveles de fósforo y 5 tiempos de

digestión.

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$ijkim = \mu + D_i + L_j + F_k + T_l + (DL)_{ij} + (DF)_{ik} + (DT)_{il} + (LF)_{jk} + (LT)_{jl} + (PT)_{kl} + (DLP)_{ijk} + (DLT)_{ijl} + (LFT)_{jkl} + (DPT)_{ikl} + (DLPT)_{ijkl} + (ijkl)m$$

En donde:

- $\mu$  = media general
- $D_i$  = i-ésimo tiempo de digestión
- $L_j$  = j-ésimo líquido o solución
- $F_k$  = k-ésimo nivel de fósforo.
- $T_l$  = l-ésimo tiempo de incubación
- $ijkim$  = error experimental dentro de todos los efectos  $(ijkl)m$  NID  $(0, \sigma^2)$

$(DL)_{ij}$ ,  $(DF)_{ik}$ ,  $(DT)_{il}$ ,  $(LF)_{jk}$ ,  $(LT)_{jl}$  y  $(PT)_{kl}$  son las interacciones en dos sentidos de los efectos principales.

$(DLP)_{ijk}$ ,  $(DLT)_{ijl}$ ,  $(LFT)_{jkl}$  y  $(DPT)_{ikl}$  son las interacciones en tres sentidos de los efectos principales.

$(DLPT)_{ijkl}$  son las interacciones en todos los sentidos de los efectos principales.

Los datos fueron analizados por análisis de varianza y la diferencia entre medias por el método de Tukey (24).

## RESULTADOS

En el cuadro 5 se muestra el análisis de varianza de los resultados obtenidos. Se puede ver que la interacción tiempo de digestión-nivel de fósforo-líquido no fue significativa, mientras que para el resto de los efectos sí lo fue.

En el cuadro 6 se puede observar que todos los tiempos de predigestión en rumen fueron diferentes y junto con la gráfica 1 se observa que las muestras con 0 h tuvieron el porcentaje de solubilidad más alto y las de 24 h tuvieron la solubilización más baja.

En el cuadro 7 se observa que hubo diferencias entre líquido ruminal y agua deionizada siendo ésta la que produjo mayor solubilidad después de la incubación.

En el cuadro 8 se muestran los resultados para los niveles de fósforo en solución donde se observa que los niveles 3 y 4 resultaron iguales y en la gráfica 2 se observa que en el nivel 1 de fósforo se obtuvo la solubilización más alta y disminuye al aumentar la concentración de fósforo en el medio.

En el cuadro 9 se observa que no hubo diferencias para los tiempos de incubación de 3 y 24 h. en la gráfica 3 se muestra que a las 96 h de incubación se obtuvo la máxima solubilidad.

En los cuadros 10.a. al 10.e. se muestran los resultados de las interacciones de las variables en 4

sentidos. La mayoría de los valores negativos de solubilización se encuentran dentro de las muestras con 24 h de predigestión en rumen y dentro de éstas las que tienen 24 h de incubación. De manera general éstas muestras tuvieron las solubilizaciones más bajas que van desde -28.3%. También se encuentran digestibilidades negativas en las muestras con 12 h de predigestión de las cuales todas fueron incubadas con líquido ruminal.

En el cuadro 11 se observa que todos los tratamientos resultaron diferentes. Junto con la gráfica 4 se hace notar que las muestras con 24 h de predigestión y líquido ruminal tuvieron -2.6% de solubilización. La muestra de 12 h de digestión con líquido ruminal obtuvo la solubilización más baja.

El cuadro 12 nos muestra que hay diferencias significativas entre los tiempos de digestión, más no así entre los niveles de fósforo. En el tiempo de predigestión 0 h los primeros tres niveles de fósforo resultaron iguales; para las muestras de 6 h, los niveles 1 y 2 son iguales, así como los niveles 3 y 4. lo mismo sucede con las muestras de 12 h. En las muestras con 18 h de digestión los cuatro niveles resultaron iguales y para las de 24 h, el nivel 2 es igual al resto de los niveles, sin embargo el nivel 1 es diferente de los niveles 3 y 4.

En el cuadro 13 y en la gráfica 5 se observa que hay diferencias entre digestiones, pero no así entre tiempos de incubación. Los tratamientos de 0 h de digestión con 24, 48, y 76 h de incubación resultaron iguales y tuvieron los



porcentajes de digestión más altos. Las muestras de 12 h de digestión con 3, 24 y 48 h de incubación también fueron iguales y tuvieron las solubilizaciones más bajas. Se puede observar que hay 2 resultados con digestibilidades negativas que corresponden a los valores con el máximo porcentaje de concentración de fósforo y fueron las muestras de 24 h de digestión con 24 y 48 h de incubación.

En el cuadro 14 se muestra que todos los tratamientos con agua deionizada son iguales como se observa también en la gráfica 7 la curva no muestra gran variación y tuvieron mayor solubilidad que los tratamientos con líquido ruminal de los cuales los niveles 3 y 4 de fósforo resultaron iguales.

En el cuadro 15 y en la gráfica 8 se muestra que para el agua deionizada las muestras de 3, 24 y 48 h de incubación resultaron iguales y tuvieron solubilidades más altas que con líquido ruminal en las que todas fueron diferentes.

En el cuadro 16 y en la gráfica 9 se muestra que los tratamientos del nivel 3 de fósforo con 3, 24 y 48 h y que el nivel 2 con 24 h de incubación son totalmente iguales.

## D I S C U S I O N

En la gráfica 1 se observa que a mayor tiempo de digestión hay mayor porcentaje de fósforo, esto mismo fue observado por Sánchez y Flayrie *et al* quien menciona que un elemento puede no ser liberado del forraje debido a un enlace físico o químico con una fracción de fibra no digestible, o la falta de gradiente de concentración entre los residuos de forraje y el líquido ruminal, también menciona que puede deberse a la presencia de una bacteria fuertemente adherida a la muestra y que no fue removida durante el lavado al final de la incubación (18, 22).

Como se observa en el cuadro 7 y en las gráficas 4, 7 y 8 hubo mayor solubilización del fósforo de la muestra incubada con agua deionizada, lo cual posiblemente se deba a la disociación a menor pH de algunos complejos insolubles de minerales (1).

La gráfica 2 muestra que al aumentar la concentración de fósforo en el medio provoca que el fósforo no se solubilize y se quede en la muestra, de manera semejante Martínez *et al* al adicionar diferentes cantidades de minerales a una suspensión de microorganismos y determinar el porcentaje de digestibilidad de la celulosa observó que a cierta concentración de minerales se disminuye la digestión de la celulosa, por lo cual se conservan las cantidades de minerales en la muestra (11).

En la gráfica 3 se observa que la concentración de

fósforo disminuye conforme aumenta el tiempo de incubación, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Playne et al (18).

Las gráficas 4, 7 y 8 no muestran interacción entre los dos tipos de líquidos con las variables utilizadas en el experimento, sin embargo en el análisis estadístico hubo diferencias significativas. Grant et al obtuvieron también diferencias al utilizar fluido ruminal de diferente origen (5).

Las gráficas 4, 5 y 6 muestran que el tiempo de predigestión ruminal es el que determina principalmente el aumento de la concentración de fósforo en la muestra, en las gráficas 5 y 6 se observa la interacción del tiempo de predigestión ruminal con el nivel de fósforo en solución y con el tiempo de incubación.

La gráfica 9 muestra que hay varias interacciones entre tiempo de incubación y nivel de fósforo, esto implica que las dos variables ejercen influencia en diferentes sentidos en la solubilización del fósforo de la muestra.

En los cuadros 10.a. al 10.e. con interacciones en todos los sentidos se observa que al aumentar el tiempo de digestión aumenta la concentración de fósforo y disminuye el porcentaje de solubilización. El porcentaje de digestibilidad no sigue un patrón "normal ascendente" como debería considerarse que al aumentar el tiempo de incubación aumentaría la digestibilidad y por lo tanto disminuye la cantidad de fósforo en la muestra. La mayoría de las muestras presentan en alguno de los tiempos de incubación

una disminución de la digestibilidad respecto a la digestibilidad del tiempo inmediato anterior. Las muestras que tuvieron un comportamiento esperado de acuerdo a otros trabajos fueron las de 6 h de digestión con agua deionizada.

En el cuadro 11 donde se muestran solubilizaciones negativas de fósforo significa que no solo no hubo solubilización, sino que además se fijó cierta cantidad del elemento en solución del medio hacia la muestra.

En los cuadros 12 y 16 se observa que algunos tratamientos se traslapan debido a que existe gran variación de las muestras que lo conforman, por lo que sus valores quedan dentro de los niveles del tratamiento adyacente.

Cuadro 1. COMPOSICION DE LA DIETA DE MANTENIMIENTO  
PARA BORREGOS.

Ingrediente	% de inclusion
Sorgo	15.00
Pasta de girasol	7.00
Kastrojo	43.93
Alfalfa	32.07
Premezcla vitaminica	2.00

Cuadro 2. EFECTO DEL TIEMPO DE PREDIGESTION RUMINAL  
SOBRE LA CONCENTRACION DE FOSFURO EN LA ALFALFA  
UTILIZADA EN LOS TRATAMIENTOS.

h. de digestion en rumen	Concentracion de fosforo (%)
0	0.1417
6	0.1651
12	0.2181
18	0.4158
24	0.5071

Cuadro 3. CONCENTRACION DE MINERALES DEL LIQUIDO RUMINAL UTILIZADO EN EL EXPERIMENTO

Mineral	Concentración (ug/ml)
P	97.64
Ca	78.0
Mg	67.5
Na	480.0
K	720.0
Zn	0.5
Cu	0.03
Mn	0.03

Cuadro 4. TRATAMIENTOS A QUE FUERON SOMETIDAS LAS MUESTRAS.

Digestión (h)	Nivel de fósforo	Horas de incubación de la alfalfa in vitro							
		3		24		48		96	
		A	B	A	B	A	B	A	B
		Tipo de líquido							
		A	B	A	B	A	B	A	B
3	1	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+
24	1	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+
48	1	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+
96	1	+	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	+	+

A = Agua deionizada

B = Líquido ruminal

Cuadro 5. ANALISIS DE VARIANZA PARA TIEMPO DE DIGESTION, LIQUIDO, NIVEL DE FOSFORO Y TIEMPO DE INCUBACION

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
Tiempo de digestión (D)	4	511.775	**
Líquido (L)	1	11.536	**
Nivel de fósforo (P)	3	2.437	**
Tiempo de incubación (T)	3	5.133	**
D x L	4	0.51	**
D x P	12	0.722	**
D x T	12	7.529	**
L x P	3	2.011	**
L x T	3	0.71	**
P x T	9	0.98	**
D x L x P	12	0.133	N.S.
D x P x T	36	1.476	**
L x P x T	9	0.604	**
D x L x T	12	0.47	**
D x L x P x T	36	1.748	**
Error	320	4.495	
Total	479	552.275	

\*\* P < 0.01

N.S. = No hubo diferencia estadística significativa.

Cuadro 6. CONCENTRACION Y SOLUBILIDAD DEL FOSFORO  
DE LAS MUESTRAS DE ALFALFA CON DIFERENTES TIEMPOS  
DE PREDIGESTION RUMINAL DESPUES DE SU INCUBACION

Tiempo de predigestión ruminal (h)	Concentración de fósforo en alfalfa (%)	Solubilidad del fósforo (%)
0	0.0373 <sup>a</sup>	73.6
6	0.0936 <sup>b</sup>	43.3
12	0.1840 <sup>c</sup>	15.7
18	0.3235 <sup>d</sup>	22.1
24	0.4872 <sup>e</sup>	3.9

Literales distintas en columnas indican diferencias significativas entre medias ( $P < 0.05$ ) (el porcentaje de fósforo en la alfalfa inicial según el tiempo de predigestión aparece en el cuadro 2)



CUADRO 7. CONCENTRACION Y SOLUBILIDAD DEL FOSFORO  
DE ALFALFA INCUBADA EN LIQUIDO RUMINAL O AGUA DEIONIZADA

Tipo de solución	Concentración de fósforo(%)	Solubilidad del fósforo(%)
Líquido ruminal	0.2175 <sup>a</sup>	24.9
Agua deionizada	0.1695 <sup>b</sup>	41.4

CUADRO 8. CONCENTRACION Y SOLUBILIDAD DEL FOSFORO  
EN ALFALFA INCUBADA CON DIFERENTES CONCENTRACIONES  
DE FOSFORO EN SOLUCION

Nivel de fósforo	Concentración de fósforo (%)	Solubilidad (%)
1	0.1772 <sup>a</sup>	38.6
2	0.187 <sup>b</sup>	35.4
3	0.2021 <sup>c</sup>	30.2
4	0.2053 <sup>c</sup>	29.1

Literales distintas en columnas indican diferencias significativas entre medias (P < .05). como base de comparación se consideró el promedio (0.2896%) de concentración de fósforo de todas las muestras de alfalfa predigerida y no digerida

CUADRO 9. CONCENTRACION Y SOLUBILIDAD DEL FOSFORO  
EN ALFALFA INCUBADA A DIFERENTES TIEMPOS

Tiempo de incubación (h)	Concentración de fósforo (%)	Solubilidad (%)
3	0.2064 <sup>a</sup>	28.7
24	0.2044 <sup>b</sup>	29.4
48	0.1948 <sup>b</sup>	32.7
96	0.1666 <sup>c</sup>	42.4

Literales distintas en columnas indican diferencias significativas entre medias ( $F < .05$ ). Como base de comparación se consideró el promedio (0.2876) de concentración de fósforo de todas las muestras de alfalfa indigerida y no digerida.

CUADRO 10.a. CONCENTRACION DE FOSFORO (%) DE LAS MUESTRAS CON LAS CUATRO VARIABLES

Alfalfa con " 0 " h de digestión en rumen					
h de incubación in vitro	tipo de liquido	nivel de fósforo en solución			
		1	2	3	4
3	A	0.068 (51.8)	0.068 (51.3)	0.064 (54.1)	0.066 (52.8)
3	B	0.037 (73.6)	0.050 (64.6)	0.053 (62.3)	0.045 (68.0)
24	A	0.032 (77.0)	0.037 (73.8)	0.061 (56.3)	0.036 (74.5)
24	B	0.024 (82.4)	0.026 (81.6)	0.022 (84.1)	0.029 (79.2)
48	A	0.024 (82.8)	0.035 (75.2)	0.035 (75.2)	0.070 (50.5)
48	B	0.017 (87.6)	0.029 (79.0)	0.023 (83.6)	0.038 (73.0)
96	A	0.028 (80.0)	0.032 (77.4)	0.035 (75.0)	0.083 (40.8)
96	B	0.018 (86.6)	0.019 (86.2)	0.019 (86.2)	0.020 (85.8)

A = Liquido ruminal. B = Agua deionizada

Entre paréntesis el porcentaje de solubilidad o digestibilidad del fósforo.

CUADRO 10.b. CONCENTRACION DE FOSFORO (%) DE LAS  
MUESTRAS CON TODAS LAS VARIABLES

Alfalfa con " 6 " h de digestión en rumen					
h de incubación in vitro	tipo de líquido	nivel de fosforo en solución			
		1	2	3	4
3	A	0.118 (27.9)	0.128 (21.9)	0.133 (19.3)	0.143 (12.8)
3	B	0.100 (39.0)	0.092 (43.9)	0.099 (39.6)	0.108 (34.4)
24	A	0.097 (41.1)	0.134 (18.4)	0.161 (2.4)	0.178 (-7.8)
24	B	0.067 (59.1)	0.073 (55.2)	0.075 (54.4)	0.074 (55.1)
48	A	0.067 (59.2)	0.083 (49.3)	0.137 (16.7)	0.100 (39.2)
48	B	0.063 (61.7)	0.063 (61.7)	0.066 (59.8)	0.072 (55.9)
96	A	0.086 (47.8)	0.081 (50.8)	0.128 (22.4)	0.108 (34.2)
96	B	0.061 (63.0)	0.057 (65.4)	0.056 (65.7)	0.057 (64.9)

A = Líquido ruminal, B = Agua deionizada.

Entre paréntesis el porcentaje de digestibilidad o solubilidad del fósforo.

CUADRO 10.c. CONCENTRACION DE FOSFORO (%) DE LAS  
MUESTRAS CON TODAS LAS VARIABLES

-----  
Alfalfa con " 12 " h de digestión en rumen  
-----

h de incubación in vitro	tipo de líquido	nivel de fósforo en solución			
		1	2	3	4
3	A	0.203 (6.9)	0.210 (3.8)	0.230 (-5.3)	0.262 (-19.9)
3	B	0.165 (24.4)	0.167 (23.3)	0.175 (19.5)	0.169 (22.4)
24	A	0.202 (7.5)	0.240 (-9.8)	0.260 (-19.3)	0.262 (-20.1)
24	B	0.178 (18.3)	0.149 (31.7)	0.163 (25.7)	0.157 (27.7)
48	A	0.134 (38.5)	0.208 (4.4)	0.266 (-22.1)	0.245 (-12.4)
48	B	0.158 (27.4)	0.155 (29.0)	0.183 (16.1)	0.168 (22.7)
96	A	0.137 (37.0)	0.121 (44.5)	0.210 (3.6)	0.192 (11.9)
96	B	0.144 (33.9)	0.145 (33.3)	0.150 (30.9)	0.141 (35.4)

-----

A = Líquido ruminal, B = Agua deionizada

Entre paréntesis el porcentaje de digestibilidad o solubilización del fósforo.

CUADRO 10.d. CONCENTRACION DE FOSFORO (%) DE LAS  
MUESTRAS CON TODAS LAS VARIABLES

Alfalfa con " 18 " h de digestión en rumen					
h de incubación in vitro	tipo de liquido	nivel de fósforo en solución			
		1	2	3	4
3	A	0.343 (17.4)	0.352 (15.2)	0.371 (10.6)	0.391 (5.8)
3	B	0.312 (24.9)	0.321 (22.6)	0.307 (26.0)	0.292 (29.6)
24	A	0.335 (19.2)	0.380 (8.6)	0.363 (12.6)	0.352 (15.3)
24	B	0.289 (30.3)	0.291 (29.9)	0.227 (45.2)	0.315 (24.2)
48	A	0.343 (17.3)	0.338 (18.4)	0.374 (9.8)	0.380 (8.4)
48	B	0.336 (19.0)	0.307 (25.9)	0.347 (16.4)	0.303 (27.1)
96	A	0.304 (26.8)	0.281 (32.2)	0.372 (10.3)	0.378 (8.9)
96	B	0.244 (41.1)	0.283 (31.7)	0.282 (32.1)	0.259 (37.6)

A = Líquido ruminal, B = Agua deionizada.

Entre paréntesis el porcentaje de digestibilidad o solubilización del fósforo.

CUADRO 10.e. CONCENTRACION DE FOSFORO (%) DE LAS  
MUESTRAS CON TODAS LAS VARIABLES

Alfalfa con " 24 " h de digestión en rumen

h de incubación in vitro	tipo de liquido	nivel de fósforo en solución			
3	A	0.458 (9.6)	0.482 (4.8)	0.447 (11.7)	0.480 (5.2)
3	B	0.402 (20.6)	0.410 (19.0)	0.401 (20.9)	0.416 (17.8)
24	A	0.604 (-19.1)	0.575 (-13.5)	0.632 (-24.6)	0.650 (-28.3)
24	B	0.505 (6.4)	0.575 (-13.4)	0.496 (2.1)	0.559 (-10.3)
48	B	0.477 (5.9)	0.543 (-7.2)	0.596 (-17.6)	0.620 (-22.3)
48	B	0.499 (1.5)	0.501 (1.1)	0.503 (0.7)	0.471 (7.1)
96	A	0.416 (17.9)	0.420 (17.1)	0.489 (3.5)	0.477 (5.7)
96	B	0.364 (28.0)	0.387 (23.5)	0.449 (11.4)	0.368 (27.4)

A = Líquido ruminal. B = Agua deionizada.

Entre paréntesis el porcentaje de digestibilidad o solubilidad del fósforo.

CUADRO 11. EFECTO DEL TIPO DE LIQUIDO Y EL TIEMPO DE DIGESTION EN RUMEN SOBRE LA CONCENTRACION DE FOSFORO (%) DE LA ALFALFA

Tiempo de digestión	Líquido ruminal	Agua deionizada
0	0.0470 <sup>a</sup> (66.8)	0.0287 <sup>b</sup> (79.7)
6	0.1161 <sup>c</sup> (29.6)	0.0735 <sup>d</sup> (55.4)
12	0.2090 <sup>e</sup> (4.3)	0.1606 <sup>f</sup> (26.5)
18	0.354 <sup>g</sup> (14.8)	0.2943 <sup>h</sup> (29.2)
24	0.5207 <sup>i</sup> (-2.6)	0.4548 <sup>j</sup> (10.3)

Literales distintas en renglones y columnas indican diferencias significativas entre medias ( $P < .05$ ), entre paréntesis el porcentaje de digestión o solubilización del fósforo.



CUADRO 12. EFECTO DEL TIEMPO DE DIGESTION EN RUMEN  
Y EL NIVEL DE FOSFORO EN SOLUCION SOBRE LA  
CONCENTRACION DE FOSFORO (%) EN LA ALFALFA

tiempo de digestión	nivel de fósforo en solución			
	1	2	3	4
0	a 0.0300 (78.8)	a 0.0360 (74.5)	a 0.0378 (73.4)	b 0.0464 (67.2)
6	c 0.0815 (50.6)	c 0.0875 (47.0)	d 0.1040 (37.0)	d 0.1023 (38.0)
12	e 0.1645 (24.7)	e 0.1726 (21.0)	f 0.2030 (7.09)	f 0.1973 (9.7)
18	g 0.3128 (24.7)	g 0.3188 (23.3)	g 0.3288 (20.9)	g 0.3336 (19.7)
24	h 0.4634 (8.6)	h1 0.4847 (4.4)	i 0.4994 (1.5)	i 0.5016 (1.1)

Literales distintas en renglones y columnas indican diferencias significativas entre medias (P < .05), entre paréntesis en porcentaje de digestión o solubilización del fósforo

CUADRO 13. EFECTO DEL TIEMPO DE DIGESTION EN RUMEN  
Y EL TIEMPO DE INCUBACION *in vitro* SOBRE LA  
CONCENTRACION DE FOSFORO (%) EN LA ALFALFA

Tiempo de digestión	tiempo de incubación (h)			
	3	24	48	96
0	0.0553 (60.2)	0.0329 (76.7)	0.0327 (76.9)	0.0299 (78.8)
6	0.1151 (30.2)	0.1040 (37.0)	0.0802 (51.4)	0.0773 (53.1)
12	0.1966 (10.0)	0.1992 (8.8)	0.1877 (14.0)	0.1542 (29.4)
18	0.3358 (19.2)	0.3175 (23.8)	0.3411 (17.9)	0.3003 (27.7)
24	0.4369 (13.8)	0.5738 (-13.1)	0.5255 (-3.6)	0.4205 (17.0)

Literales distintas en renglones y columnas indican diferencias significativas entre medias ( $P < .05$ ). Entre paréntesis el porcentaje de digestión o solubilización del fósforo.

CUADRO 14. EFECTO DEL NIVEL DE FOSFORO EN SOLUCION  
Y EL TIPO DE LIQUIDO SOBRE LA CONCENTRACION  
DE FOSFORO (%) EN LA ALFALFA

Nivel de fósforo en solución	Líquido ruminal	Agua deionizada
1	0.1395 <sup>a</sup> (34.5)	0.1653 <sup>d</sup> (42.9)
2	0.2042 <sup>b</sup> (29.5)	0.1706 <sup>d</sup> (41.1)
3	0.2358 <sup>c</sup> (18.5)	0.1709 <sup>d</sup> (40.9)
4	0.2425 <sup>c</sup> (16.2)	0.1713 <sup>d</sup> (40.8)

CUADRO 15. EFECTO DEL TIEMPO DE INCUBACION *in vitro*  
Y EL TIPO DE LIQUIDO SOBRE LA CONCENTRACION  
DE FOSFORO (%) EN LA ALFALFA

Tiempo de incubación <i>in vitro</i>	Líquido ruminal	Agua deionizada
3	0.2273 <sup>a</sup> (21.5)	0.1828 <sup>bd</sup> (36.8)
24	0.2405 <sup>c</sup> (16.9)	0.1750 <sup>d</sup> (39.5)
48	0.2141 <sup>e</sup> (26.0)	0.1764 <sup>d</sup> (39.1)
96	0.1896 <sup>b</sup> (34.5)	0.1452 <sup>f</sup> (49.8)

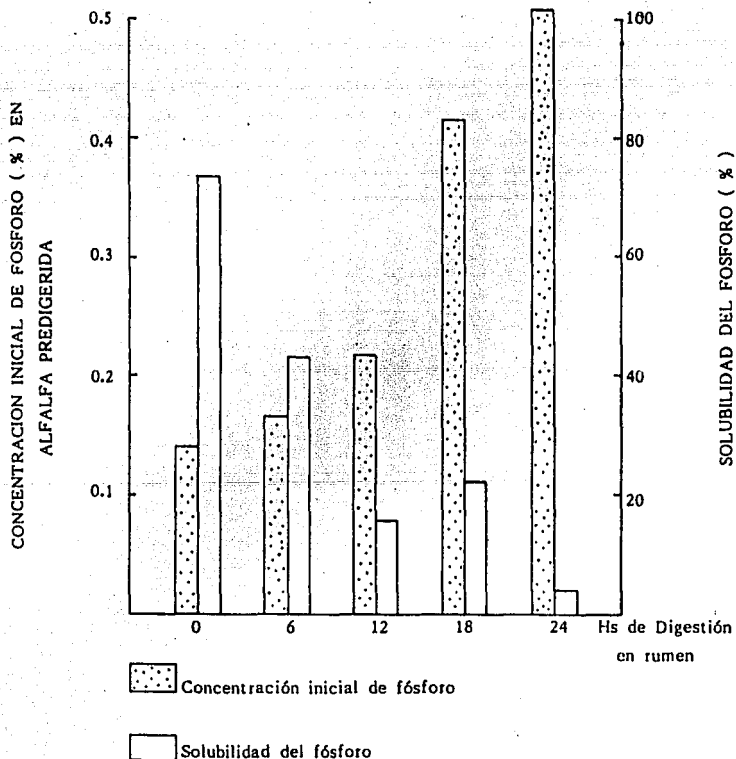
Literales distintas en renglones y columnas indican diferencias significativas entre medias ( $P < .05$ ), entre paréntesis el porcentaje de digestión o solubilización del fósforo.

CUADRO 16. EFECTO DEL TIEMPO DE INCUBACION *in vitro*  
Y EL NIVEL DE FOSFORO SOBRE LA CONCENTRACION  
DE FOSFORO (%) EN LA ALFALFA

Tiempo de incubación (h)	Nivel de fósforo en solución			
	bcde	abcd	abc	ab
3	0.1963 (32.2)	0.2038 (29.6)	0.2054 (29.0)	0.2124 (26.6)
24	0.1925 (33.5)	0.2064 (28.7)	0.2087 (27.9)	0.2186 (24.5)
48	0.1672 (42.2)	0.1879 (35.1)	0.2060 (28.8)	0.2112 (27.0)
96	0.1515 (47.6)	0.1526 (47.3)	0.1834 (36.6)	0.1803 (37.7)

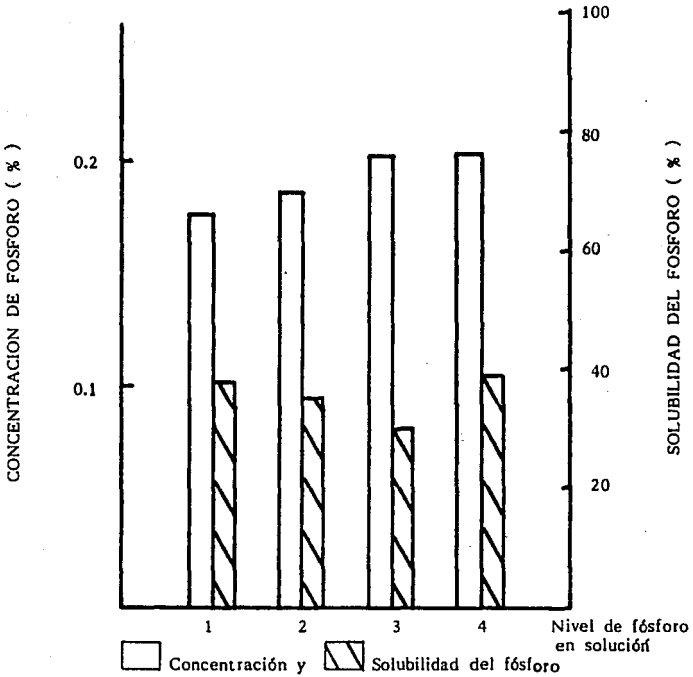
Literales diferentes en renglones y columnas indican diferencias significativas entre medias ( $P < .05$ ), entre paréntesis el porcentaje de digestión o solubilización del fósforo.

GRAFICA 1  
CONCENTRACION DE FOSFORO EN ALFALFA SOMETIDA A DIFERENTES  
TIEMPOS DE PREDIGESTION RUMINAL Y SU SOLUBILIDAD DESPUES DE  
LA INCUBACION



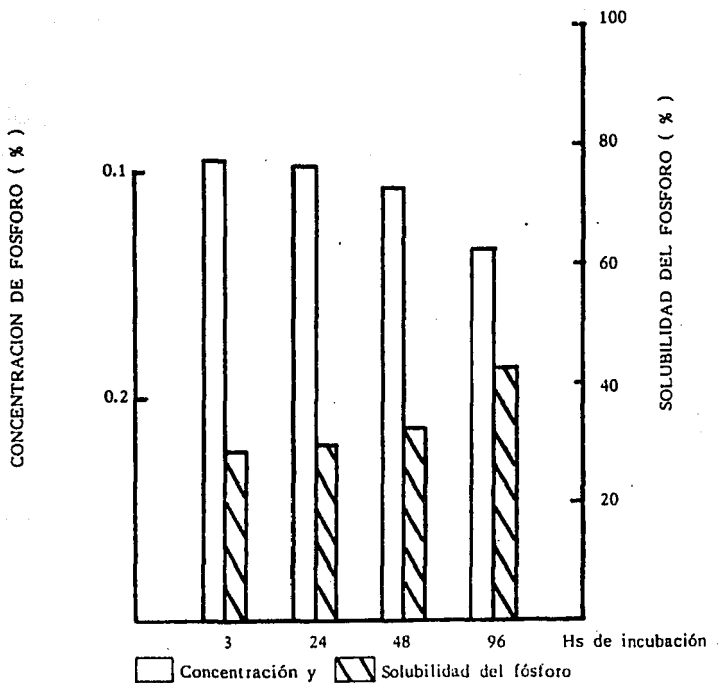
GRAFICA 2

CONCENTRACION DE FOSFORO EN ALFALFA Y SU SOLUBILIDAD DESPUES DE SU INCUBACION CON DIFERENTES NIVELES DE FOSFORO EN SOLUCION



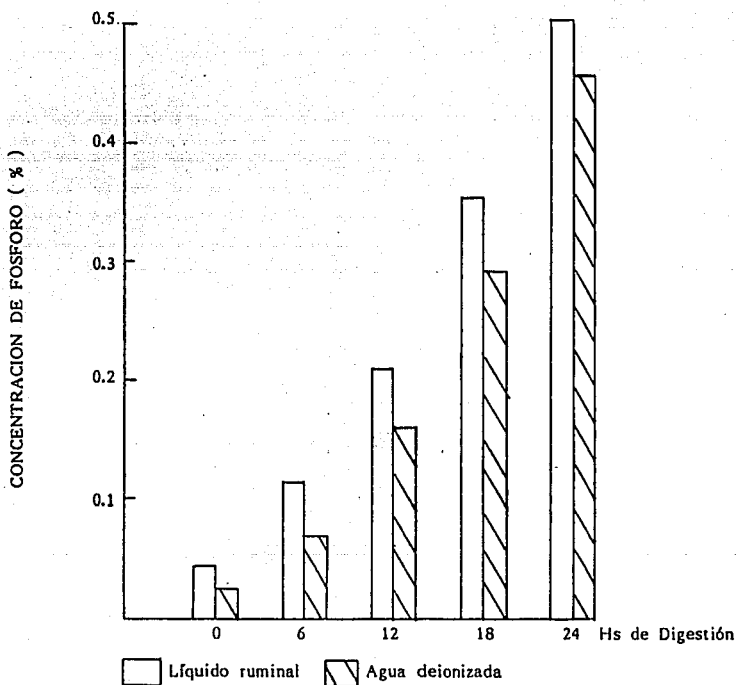
GRAFICA 3

CONCENTRACION DE FOSFORO EN LA ALFALFA Y SU SOLUBILIDAD  
DESPUES DE INCUBARSE A DIFERENTES TIEMPOS



GRAFICA 4

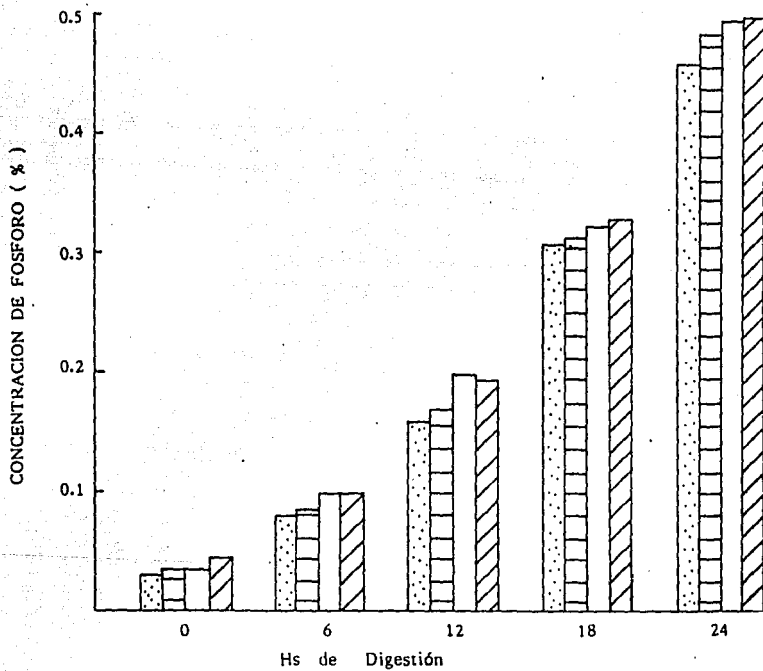
CONCENTRACION DE FOSFORO EN LA ALFALFA CON LAS VARIABLES  
DIGESTION Y TIPO DE LIQUIDO





GRAFICA 5

CONCENTRACION DE FOSFORO EN LA ALFALFA CON LAS VARIABLES  
DIGESTION Y NIVEL DE FOSFORO EN SOLUCION



Niveles de fósforo:



1



2



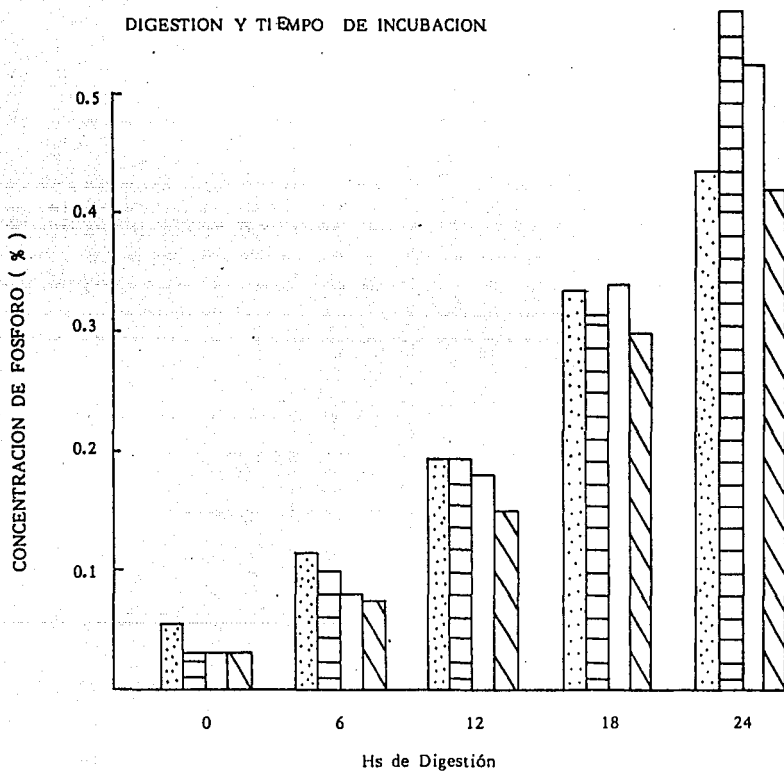
3



4

GRAFICA 6

CONCENTRACION DE FOSFORO EN LA ALFALFA CON LAS VARIABLES  
DIGESTION Y TIEMPO DE INCUBACION



Tiempo de incubación:



3 hs



24 hs



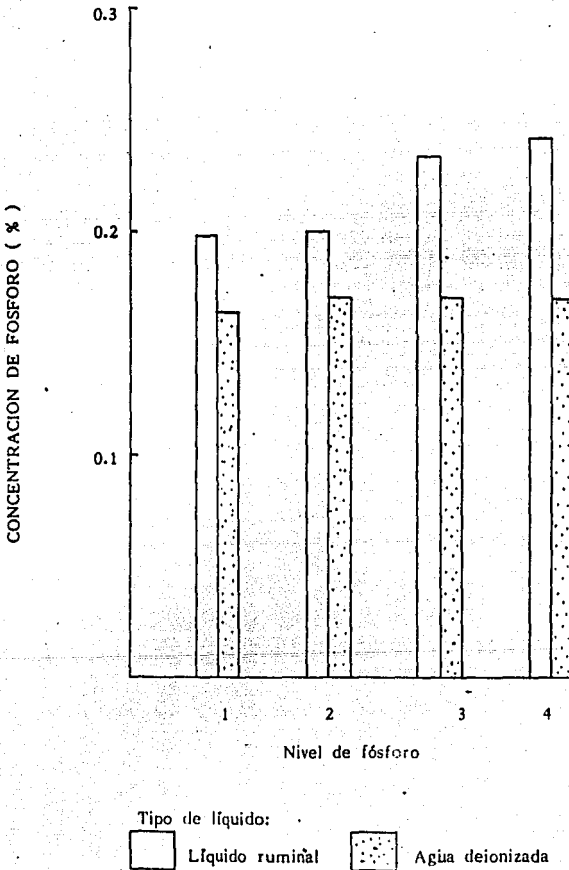
48 hs



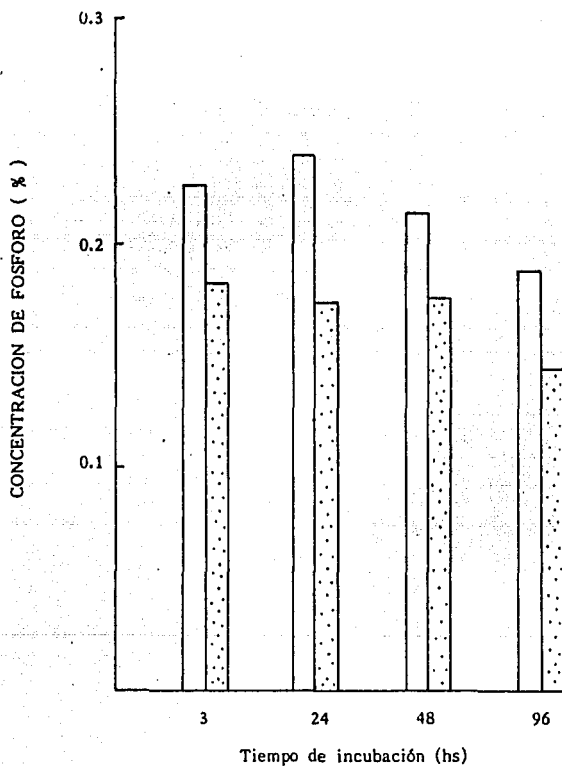
96 hs

GRAFICA 7

CONCENTRACION DE FOSFORO EN LA ALFALFA CON LAS VARIABLES  
NIVEL DE FOSFORO EN SOLUCION Y TIPO DE LIQUIDO



CONCENTRACION DE FOSFORO EN LA ALFALFA CON LAS VARIABLES  
TIEMPO DE INCUBACION Y TIPO DE LIQUIDO



Tipo de liquido:

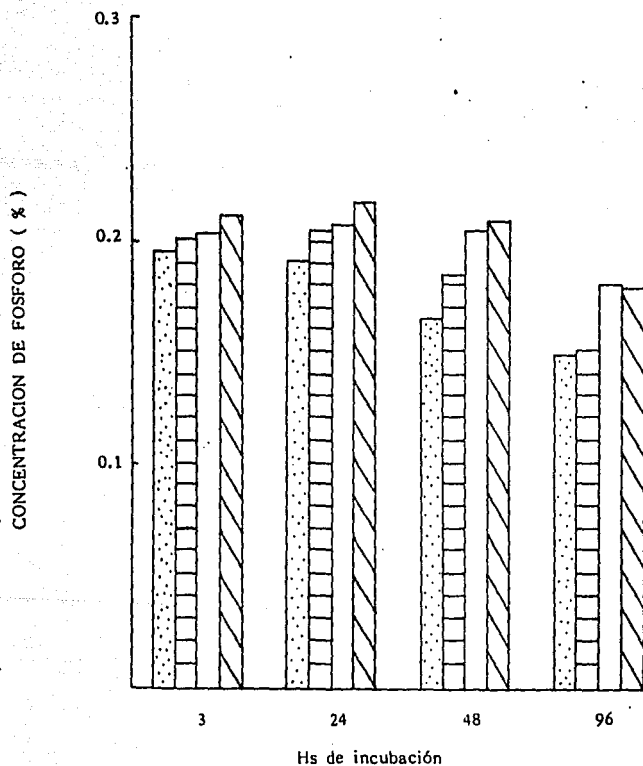


Liquido ruminal



Agua deionizada

CONCENTRACION DE FOSFORO EN LA ALFALFA CON LAS VARIABLES  
TIEMPO DE INCUBACION Y NIVEL DE FOSFORO



Nivel de fósforo:



1



2



3



4

L I T E R A T U R A C I T A D A

- 1.- Bremner, I.: Zinc, copper and manganese in the alimentary tract of sheep. *Br. J. Nutr.* 24:769-783 (1970).
- 2.- Church, D. C.: Livestock feeds and feeding. O&B Books, Inc. Corvallis, Oregon, 1979.
- 3.- Fevre Le, C. F. and Kamstra, L. D.: A comparison of cellulose digestion in vitro and in vivo. *J. Anim. Sci.* 19:867-872 (1960).
- 4.- Figroid, W., Hale, W. H. and Theurer, B.: An evaluation of the nylon bag technique for estimating rumen utilization of grains. *J. Anim. Sci.* 35:113-120 (1972).
- 5.- Grant, R. J., Van Soest, P. J. and McDowell, R. E.: Influence of rumen fluid source and fermentation time on in vitro true dry matter digestibility. *J. Dairy Sci.* 57:1201-1205 (1974).
- 6.- Guzmán, M. G., Rivas, G. A., Romero-Paredes, R. J., Tapia, G. y Pérez, D. M.: Disponibilidad de minerales (Cu, Mg, K, Ca, Mn y Zn) in situ a nivel ruminal del pasto pangola (*Digitaria decumbens*). (Trabajo no publicado).
- 7.- Hecker, J. F.: A simple rapid method for inserting rumen cannulae in sheep. *Austr. Vet. J.* 45:293-294 (1969).
- 8.- Juárez, S. M. E., Vera, G. E., Pérez, D. M., Cortés, C. C. y Castillo, F.: Manual de procedimientos para el análisis de minerales en forrajes. INIP-SARH. México, 1985.
- 9.- Kincaid, R. L. and Cronrath, J. D.: Amounts and distribution of minerals in washington forages. *J. Dairy*

Sci. 66:821-824 (1983).

10.- Lamand, M., Amboulou, D. and Rayssiguier, Y.: Effect of quality of forage on availability of trace elements and some major elements. *Ann. Rech. Vét.* 9:303-306 (1977).

11.- Martinez, A. and Church, V. C.: Effect of various mineral elements on in vitro rumen cellulose digestion. *J. Anim. Sci.* 31:982-990 (1970).

12.- McDonald, O., Edwards, R. A. and Greenhalgh, J. F. D.: Animal nutrition, 3rd Ed. Longman, London, 1981.

13.- McDowell, L. R., Conrad, J. H., Ellis, G. L. y Lousii, J.k.: Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. Departamento de Ciencia Animal, Centro de Agricultura Tropical, Universidad de Florida, Gainesville, 1984.

14.- Mehrez, A. Z. and Orskov, E. R.: A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. agric. Sci.* 83:645-650 (1977).

15.- Orskov, E. R., Howell, Deb F. D. and Mould, F.: The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Proc. Anim. Ind.* 5:195-213 (1980).

16.- Peeler, H.T.: Biological availability of nutrients in feeds: availability of major mineral ions. *J. Anim. Sci.* 35:695-712 (1972).

17.- Perdomo, J.T., Shirley, R.L. and Chico, C.F.: Availability of nutrient mineral in four tropical forages fed freshly chopped to sheep. *J. Anim. Sci.* 49:1114-1119

(1977).

18.- Playne, M.J., Echevarria, M.G. and Megarrity, R.G.: Release of nitrogen sulphur, phosphorus, calcium, magnesium, potassium and sodium from four tropical hays during their digestion in nylon bags in the rumen. *J. Sci. Ed. Agric.* 23:520-526 (1976).

19.- Playne, M.J., McLeod, N.N. and Dekker, R.F.H.: Digestion of the dry matter, nitrogen, phosphorus, sulphur, calcium and detergent-fibre fractions of the seed and pod of *stylosanthes humilis* contained on terylene bags in the bovine rumen. *J. Sci. Ed. Agric.* 23:925-932 (1972).

20.- Rivas, G.A., Pérez, D.M. y Vázquez, F.: Efecto de la dieta y del tiempo de incubación sobre la digestibilidad in situ del pasto estrella de Africa. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. INIF-SARH. México, D.F., 737-741 (1983).

21.- Rosero, O.R., Tucker, R.E., Mitchell, Jr. G.E. and Schelling, G.I.: Mineral utilization in sheep fed spring forages of different species, maturity and nitrogen fertility. *J. Anim. Sci.* 50:128-136 (1980).

22.- Sánchez, Z.E.M.: Digestibilidad in situ a nivel ruminal, de los macrominerales calcio, fósforo, magnesio y potasio del pasto Estrella de Africa (*Cynodon plectostachyus*). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M., México, 1986.

23.- Simposio Latinoamericano sobre investigaciones en nutrición mineral de los ruminantes en pastoreo. Editado por McDowell, L.R. y Conrad, J.H. Gainesville, Florida, 1978.



24.- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H.: Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, 1960.

25.- Tomas, F.M. and Potter, B.J.: Influence of saline drinking water on the flow and mineral composition of saliva and rumen fluid of sheep. AUSTL. J. AGRIC. RES. 26:585-598 (1975).

26.- Underwood, E.J.: Los minerales en la alimentación del ganado. Acribia, España, 1969.