



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y
DE LA SALUD ANIMAL**

**UTILIZACIÓN DE N-ALCANOS PARA LA ESTIMACIÓN DEL CONSUMO
VOLUNTARIO, DE LA DIGESTIBILIDAD Y DE LA COMPOSICIÓN
BOTÁNICA DE LA DIETA DE OVINOS EN PASTOREO**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

P R E S E N T A :

CLARA AGUILLÓN GARCÍA

TUTORA: PhD. SILVIA ELENA BUNTINX DIOS

COMITÉ TUTORAL: PhD. MARIA ESTHER ORTEGA CERRILLA

MI. JORGE LECUMBERRI LÓPEZ

COLABORADORA INVITADA: DRA. ELVIRA SANTOS SANTOS

MÉXICO, D.F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

DEDICATORIA

A mí madre Clara García Rivera por la fuerza que me inspira.

A mí padre Arcadio Aguillón García por los buenos momentos que hemos vivido.

Con todo el cariño y respeto a mis hermanos Alfredo, Rodolfo, Bibiana y David por brindarme paz para realizar este proyecto.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Silvia Elena Buntinx Dios por confiar en mí para realizar este trabajo, por su paciencia y enseñanzas

A mis asesores, los Drs. María Esther Ortega Cerrilla, Jorge Lecumberri López y Elvira Santos Santos por su apoyo para realizar este trabajo

A los miembros de mí jurado la Dra. Anne Sisto Buró y Agustín Bobadilla Hernández, por su apoyo y el tiempo brindado.

Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por permitirme realizar mi trabajo de investigación. Al Dep. de Nutrición Animal y Bioquímica, por el apoyo brindado en el procesamiento de las muestras.

Al Laboratorio de Farmacéutica y al de Diseño de Experimentos del Dep. de Química Orgánica de la Facultad de Química de la UNAM, por permitirme trabajar en sus instalaciones. Al Ingeniero Joaquín Pérez Ruelas, a los Q. Liliana Aguilar y Flavio Barajar, por su apoyo y enseñanzas durante el trabajo de laboratorio.

CONTENIDO

	Página
Lista de cuadros.....	VI
Lista de figuras.....	VII
Resumen.....	X
Abstract.....	XI
1. Introducción.....	1
2. Revisión de literatura.....	3
2.1 Consumo.....	3
2.1.1 Estimación de la producción fecal.....	4
2.1.2 Marcadores.....	5
2.1.2.1 Óxido de cromo.....	6
2.1.2.2 n-Alcanos.....	7
2.2 Estimación del consumo.....	10
2.3 Digestibilidad.....	10
2.4 Composición botánica y selectividad.....	12
2.4 n-Alcanos.....	13
3. Justificación.....	14
4. Objetivos.....	15
5. Hipótesis.....	15
6. Material y Métodos.....	16
6.1 Animales y área de pastoreo.....	16
6.2 Muestreo y determinaciones.....	18
6.2.1 Cápsulas.....	18
6.2.2 Forraje.....	18

6.2.2.1 Determinación de la MS en las parcelas experimentales.....	18
6.2.2.2 Determinación de la calidad del forraje.....	19
6.2.2.3 Determinación de la composición botánica de las parcelas.....	19
6.2.2.4 Determinación de la selectividad animal y determinación del perfil de n- alcanos por especie vegetal.....	20
6.2.3 Heces.....	20
6.3 Cálculos y análisis.....	22
6.3.1 Producción fecal por animal por día.....	22
6.3.2 Consumo del forraje.....	22
6.3.3 Digestibilidad.....	23
6.3.4 Selectividad.....	24
7. Resultados y Discusión.....	26
7.1 Cápsulas.....	26
7.2 Forraje.....	26
7.2.1 Producción de la MS en las parcelas experimentales.....	26
7.3 Características del forraje en las parcelas de experimentación.....	29
7.3.1 Determinación de la MS y MO.....	29
7.3.2 Estimación de la concentración de la PC.....	31
7.3.3 Estimación de la concentración de FDN.....	32
7.3.4 Estimación de la DIVMS.....	33
7.3.5 Perfil de n-alcanos del forraje promedio en las parcelas experimentales.....	34
7.3.6 Perfil de n-alcanos de las especies forrajeras en las parcelas experimentales.	35
7.4 Composición botánica de las parcelas y estimación de la selectividad.....	39
7.4.1 Composición botánica.....	39
7.4.2 Estimación manual de la selectividad.....	40
7.5 Heces.....	43

7.5.1 Concentración de la MS, cenizas, MO, PC y FDN.....	43
7.5.2 Concentración de marcadores externos.....	46
7.5.3 Perfil de n-Alcanos en heces.....	46
7.6 Cálculos.....	50
7.6.1 Producción fecal por animal por día.....	50
7.6.2 Consumo voluntario de la materia seca.....	54
7.6.3 Digestibilidad de la materia seca.....	59
7.6.4 Análisis de la selectividad promedio con la técnica de n-alcanos	63
8. Conclusiones.....	68
9. Literatura citada.....	69
10. Anexos.....	75
I. Análisis de selectividad promedio de la técnica de n-alcanos.....	75
II. Determinación de la concentración de n-alcanos en muestras de forraje y heces....	77
III. Valoración de la concentración de n-alcanos en las cápsulas administradas a los corderos.....	78
IV. Preparación del estándar interno.....	79
V. Perfil promedio de n-alcanos de las parcelas donde los corderos pastorearon durante la fase experimental (días 7 a 14) (mg /KgMS).....	80
VI. Perfil de n-alcanos por especie vegetal encontrado en las parcelas donde los corderos pastorearon.....	81
VII.Composición botánica de las parcelas en la fase de experimentación con la técnica manual.....	82
VIII. Concentración de marcadores externos Cr, C ₃₆ y C ₃₂	83
IX. Producción fecal estimada con Cr y C ₃₆	86
X. Digestibilidad.....	87

Lista de cuadros

	Página
Cuadro 1. Análisis realizados en el forraje durante el experimento.....	21
Cuadro 2. Estimación de la superficie de las parcelas experimentales, de la cantidad de forraje presente en cada una de ellas antes y después del pastoreo y cálculo promedio del consumo voluntario de los 12 corderos.....	27
Cuadro 3. Concentración de n-alcanos impares (C_{25} a C_{35}) y del C_{32} en el forraje presente en las parcelas experimentales.....	34
Cuadro 4. Promedio del perfil de n-alcanos impares en las heces de 12 corderos en la fase experimental (día 7-14) ($\text{mg}^{-\text{kg}}\text{MS}$).....	50
Cuadro 5. Estimación del consumo de MS ($\text{Kg}^{-\text{d}}$) a través de tres métodos (M1-M3), peso inicial, peso final y ganancia diaria de peso (GDP) de 12 Corderos durante los días 7-14 experimentales.....	55
Cuadro 6. Digestibilidad promedio (media de 12 corderos) del forraje presente en las parcelas los días 7-14 del experimento (%).....	60
Cuadro 7. Correlación de Person entre tres métodos para calcular la digestibilidad del forraje durante el experimento.....	61
Cuadro 8. Porcentaje de recuperación fecal de n-Alcanos impares.....	63
Cuadro 9. Consumo de materia seca ($\text{Kg}^{-\text{d}}$) calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$ (método 1-M1) y por el método matemático (MM) utilizado para estimar la digestibilidad.....	64
Cuadro 10. Estimación manual (M) y matemática (perfil de n-alcanos), (A) de los forrajes seleccionados por el cordero #77 durante los días de experimentación.....	65
Cuadro 11. Estimación manual (M) y matemática (perfil de n-alcanos), (A) de los forrajes seleccionados por el cordero #87 durante los días de experimentación.....	66
Cuadro 12. Estimación manual (M) y matemática (perfil de n-alcanos), (A) de los forrajes seleccionados por el cordero #111 durante los días de experimentación.....	66
Cuadro 13. Estimación manual (M) y matemática (perfil de n-alcanos), (A) de los forrajes seleccionados por el cordero #113 durante los días de experimentación.....	66

Lista de figuras

	Páginas
Figura 1. Estructura molecular del heptano (C ₇).....	8
Figura 2. Superficie cuticular cubierta con la cera que está dispuesta en la epidermis en forma de placas, bastones, gránulos y otras variedades, la cual contiene a los n-alcanos.....	8
Figura 3. Cantidad de forraje en las parcelas experimentales antes y después del pastoreo (kg MS ^{-Ha}).....	28
Figura 4. Porcentaje de MS en el forraje de las parcelas.....	30
Figura 5. Concentración de cenizas en el forraje de las parcelas.....	30
Figura 6. Concentración de MO en el forraje de las parcelas en base húmeda.....	31
Figura 7. Concentración de PC en el forraje de las parcelas en base húmeda.....	32
Figura 8. Concentración de FDN en el forraje de las parcelas en base húmeda.....	33
Figura 9. Porcentaje de digestibilidad <i>in Vitro</i> de la materia seca del forraje consumido por 12 corderos durante el experimento.....	34
Figura 10. Concentración de n-alcanos presente en el pasto kikuyo durante la fase experimental del estudio.....	36
Figura 11. Concentración de n-alcanos presente en el pasto ryegrass durante la fase experimental del estudio.....	36
Figura 12. Concentración de n-alcanos presente en el pasto trébol durante la fase experimental del estudio.....	36
Figura 13. Concentración de n-alcanos presente en el pasto <i>Brachiaria mediana hitche</i> durante la fase experimental del estudio.....	37
Figura 14. Concentración de n-alcanos presente en las arvenses durante la fase experimental del estudio.....	37
Figura 15. Concentración de n-alcanos presente en el pasto orchard durante la fase experimental del estudio.....	37
Figura 16. Concentración de n-alcanos presente en el pasto vulpia durante la fase experimental del estudio.....	38
Figura 17. Promedio de la composición botánica de las ocho parcelas utilizadas durante la fase experimental.....	40
Figura 18. Estimación manual de la selectividad de cuatro corderos durante los días 7-14 experimentales.....	41
Figura 19. Selectividad promedio de los 4 corderos muestreados durante los días 7 a 14 del periodo de experimental.....	42
Figura 20. Concentración de materia seca (MS) promedio en las heces de los corderos durante el periodo experimental.....	44
Figura 21. Concentración promedio de cenizas en las heces de los corderos durante la fase experimental.....	44

Figura 22. Concentración promedio de materia orgánica (MO) en las heces de los corderos durante el periodo experimental.....	45
Figura 23. Concentración de proteína cruda (■) y fibra detergente neutro (◆) promedio en las heces de los corderos durante el experimento (base seca).....	45
Figura 24. Concentración de los marcadores fecales Cr (◆) y C ₃₆ (▲) y del marcador de consumo C ₃₂ (■) en cuatro (87, 145, 103, 59) corderos experimentales...	47
Figura 25. Concentración de los marcadores fecales Cr (◆) y C ₃₆ (▲) y del marcador de consumo C ₃₂ (■) en cuatro (113, 77, 189, 167) corderos experimentales.	48
Figura 26. Concentración de los marcadores fecales Cr (◆) y C ₃₆ (▲) y del marcador de consumo C ₃₂ (■) en cuatro (95, 165, 111, 163) corderos experimentales.	49
Figura 27. Producción fecal (P.F.) obtenida con dos diferentes marcadores (◆) C ₃₆ y (■) Cr ₂ O ₃	51
Figura 28. Producción fecal (P.F.) obtenida con dos diferentes marcadores (◆) C ₃₆ y (■) Cr ₂ O ₃	52
Figura 29. Producción fecal (P.F.) obtenida con dos diferentes marcadores (◆) C ₃₆ y (■) Cr ₂ O ₃	53
Figura 30. Regresión entre la predicción de producción fecal (g MS ^{-d}) con cromo y con el n-alcano C ₃₆ (MS= Materia Seca).....	54
Figura 31. Estimación del consumo de materia seca (Kg MS ^{-d}) mediante la relación C ₃₁ :C ₃₂ (◆) y la técnica de Cr ₂ O ₃ /DIVMS (digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca) (■).....	56
Figura 32. Regresión de la estimación del consumo de materia seca (Kg MS ^{-d}) con la relación C ₃₁ :C ₃₂ y la técnica de Cr ₂ O ₃ /DIVMS.....	57
Figura 33. Regresión entre la estimación de la digestibilidad de la materia seca con la relación C ₃₁ :C _{32/36} y con la relación C ₃₁ :C ₃₂ / Cr.....	61
Figura 34. Regresión entre la estimación de la digestibilidad de la materia seca con la relación C ₃₁ :C _{32/36} y con la relación C ₃₁	62
Figura 35. Regresión entre la estimación de la digestibilidad de la materia seca con la relación C ₃₁ :C ₃₂ / Cr y con C ₃₁	62

RESUMEN

Aguillón García Clara. “Utilización de n-Alcanos para la estimación del consumo voluntario, de la digestibilidad y de la composición botánica de la dieta en ovinos en pastoreo”. Bajo la dirección de la Dra. Silvia Elena Buntinx Dios, Dra. María Esther Ortega Cerrilla y Ml. Jorge Lecumberri López.

Los objetivos de la presente investigación fueron: 1) estimar el consumo del forraje a través de la relación de n-alcanos $C_{31}:C_{32}$ y la técnica de $Cr_2O_3/DIVMS$, 2) determinar el mejor método de estimación de consumo y de la digestibilidad y 3) probar si la técnica de n-alcanos sirve para conocer la composición botánica de la dieta de animales en pastoreo. Fase de campo: se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO). Se utilizaron 12 machos Suffolk, que pastorearon rotacionalmente en una pradera mixta de las 8:00 a las 15:00 – 17:00 h. Los animales se dosificaron con dos cápsulas de gelatina, que contenían 60-65 mg de C_{32} + 60 – 65 mg de C_{36} y dos cápsulas con 250 mg de Cr_2O_3 . La producción fecal (g/d) media obtenida con Cr_2O_3 fue de 270 ± 49.8 y con C_{36} fue de 278.4 ± 37.1 , con una $R^2 = 0.503$ ($P < 0.001$) entre los dos métodos. La estimación del consumo (Kg MS/d) se realizó por tres métodos 1) $C_{31}:C_{32}$: media = 0.94 ± 0.22 ; 2) $Cr_2O_3/DIVMS$: media = 0.99 ± 0.16 y 3) $C_{33}:C_{32}$: media = 0.66 ± 0.14 , con una R^2 de 0.51 entre los métodos 1 y 2, una R^2 de 0.41 entre 1 y 3, y una R^2 de 0.32 entre el 2 y 3. La estimación de la digestibilidad (%) se realizó por cuatro métodos: 1) $C_{31}:C_{32}/C_{36}$: media = 70.5 ± 4.6 ; 2) $C_{31}:C_{32}/Cr$: media = 71.2 ± 3.8 ; 3) $DIVMS$: media = 71.6 ± 2.4 , y 4) C_{31} : media = 69.1 ± 5.1 . Las mejores regresiones fueron entre los métodos 1 y 4 (R^2 0.87) y 1 y 2 (R^2 0.72). Los forrajes más consumidos por los corderos fueron kikuyo y ryegrass, seguidos por *Brachiaria mediana hitche*; los menos consumidos fueron vulpia y pasto orchard. Se concluye que la técnica de n-alcanos es confiable para la estimación de consumo, digestibilidad y selectividad de animales en pastoreo.

Palabras clave: consumo voluntario, composición botánica, digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), herbívoros, n-alcanos, óxido de cromo, producción fecal.

ABSTRACT

Aguillón García Clara. “Utilization of n-alkanes for the estimation of the voluntary intake, digestibility and botanical composition of the diet of grazing sheep”. Under the supervision of Dr. Silvia Elena Buntinx Dios, Dr. María Esther Ortega Cerrilla and Ml. Jorge Lecumberri López.

The objectives of the present study were: 1) to estimate forage intake through the $C_{31}:C_{32}$ relationship and the Cr_2O_3 /IVDMD technique; 2) to determine the best method for estimating intake and digestibility, and 3) to determine if the n-alkane technique is useful in the estimation of the botanical composition of the diet of grazing animals. The field work was carried out at the Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO). Twelve Suffolk ram lambs rotationally grazed a mixed pasture, from 8:00 to 15:00-17:00 h. The animals were dosed with two gelatin capsules containing 60-65 mg de C_{32} + 60 – 65 mg de C_{36} and two gelatin capsules containing 250 mg of Cr_2O_3 . Mean fecal output (g/d) obtained with Cr_2O_3 and C_{36} was, respectively, 270 ± 49.8 and 278.4 ± 37.1 ($R^2 = 0.503$, $P < 0.001$). Intake (Kg DM/d) was estimated in three different ways: 1) $C_{31}:C_{32}$: mean = 0.94 ± 0.22 ; 2) Cr_2O_3 /IVDMD: mean = 0.99 ± 0.16 and 3) $C_{33}:C_{32}$: mean = 0.66 ± 0.14 , with an R^2 of 0.51 between methods 1 and 2, an R^2 of 0.41 between methods 1 and 3, and an R^2 of 0.32 between methods 2 and 3. Digestibility (%) was estimated in four different ways: 1) $C_{31}:C_{32}/C_{36}$: mean = 70.5 ± 4.6 ; 2) $C_{31}:C_{32}/Cr$: mean = 71.2 ± 3.8 ; 3) IVDMD: mean = 71.6 ± 2.4 , and 4) C_{31} : mean = 69.1 ± 5.1 . The best coefficients of determination were obtained between methods 1 and 4 ($R^2 0.87$) and 1 and 2 ($R^2 0.72$). Forages most consumed by the ram lambs were kikuyugrass and ryegrass, followed by *Brachiaria mediana hitche*; forages that were barely eaten were vulpia and orchardgrass. It is concluded that the n-alkane technique is reliable for the estimation of intake, digestibility and botanical composition of the diet of grazing animals.

Key words: voluntary intake, botanical composition, *in vitro* digestibility of dry matter (IVDMD), herbivores, n-alkanes, chromic oxide, fecal output.

1. INTRODUCCIÓN

El bienestar animal depende de muchas variables complejas, entre las cuales se encuentra el estado nutricional. Este depende, a su vez, de cubrir las necesidades nutricionales del animal, según la especie y el estado fisiológico. En el caso específico de los herbívoros bajo condiciones de pastoreo, el conocimiento de su estado nutricional puede determinarse mediante estimaciones de consumo voluntario, de la composición botánica de la dieta y de las características físicas y químicas de los forrajes que conforman la dieta.

La dificultad de realizar apropiadamente estas mediciones en animales en libre pastoreo ha sido investigada por años; los métodos disponibles presentan una serie de limitaciones debido a que son tediosos e inexactos (Timothy y Dehority, 1986; Vulich *et al.*, 1991).

La República Mexicana, por su situación geográfica, orografía y geología, presenta una gran diversidad de condiciones ecológicas, únicas en el mundo; estas condiciones han dado como resultado una riqueza de suelos y una diversidad de comunidades vegetales y animales. Por lo tanto, es importante desarrollar modelos de investigación que ayuden a predecir las interacciones que ocurren entre los seres vivos y su hábitat. Desde el punto de vista de producción animal, los sistemas de alimentación más económicos son aquéllos que se basan en la utilización de forrajes como fuente principal de alimento (FAO-SAGARPA, 2000; Flores, 1977; Vulich *et al.*, 1995).

La estimación del consumo voluntario de los animales en pastoreo es, posiblemente, una de las tareas más complicadas y requiere de las mediciones de la digestibilidad del alimento consumido y de la producción fecal, que no son fáciles de obtener.

La digestibilidad se logra medir mediante técnicas *in vivo* e *in vitro*. La estimación de la producción fecal tiene dificultades adicionales, ya que debe calcularse por animal en periodos de tiempo determinados, tratando de evitar las variaciones que se encuentran a lo largo del día, debidas en gran medida a las diferencias en la cantidad de forraje consumido. Los métodos que se han desarrollado para su medición van desde bolsas colectoras y jaulas metabólicas para obtener cantidades “exactas” hasta la utilización de cápsulas de liberación controlada (óxido de cromo – alcano C₃₆), que facilitan el muestreo.

Por otra parte la determinación de la composición botánica de la dieta seleccionada por los animales en pastoreo se ha realizado mediante la técnica de la microhistología en muestras fecales o muestras obtenidas de animales con fístula esofágica. Tomando muestras directas del pastizal junto con un monitoreo constante del animal.

Esta investigación se enfocó a estimar el consumo voluntario de ovinos en pastoreo mediante las técnicas de: a) producción fecal con óxido de cromo y digestibilidad *in vitro* del forraje, b) producción fecal con el alcano C_{36} y digestibilidad *in vitro* del forraje y c) la relación entre los alcanos $C_{33}:C_{32}$ o $C_{31}:C_{32}$. d) también se evaluó la posibilidad de que los n-alcanos proporcionen información sobre de la digestibilidad y la composición botánica de la dieta.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

La alimentación es una actividad compleja, controlada por centros del hipotálamo y zonas del sistema nervioso central, que incluye actividades como la búsqueda de alimento, el reconocimiento de los mismos, los movimientos necesarios para alcanzarlos, la valorización sensorial, la deglución y la iniciación y finalización del consumo (conducta alimenticia) (Forbes, 1995; Gutierrez, 1991; Lippke *et al.*, 1999; Malecheck y Provenza, 1981; Provenza *et al.*, 2003;).

La dificultad de la determinación directa del consumo voluntario de la materia seca (CVMS) en animales en pastoreo ha llevado al desarrollo de un gran número de técnicas para tratar de conseguir su estimación de forma directa e indirecta.

2.1 CONSUMO

La estimación del consumo voluntario en pastoreo libre es indispensable para realizar un buen manejo de los recursos naturales y ayudar a comprender la interacción de los animales con su medio ambiente, para lograr sistemas de producción más económicos y sustentables.

El consumo voluntario es la cantidad de alimento que los animales pueden consumir en un periodo de tiempo determinado, durante el cual el animal tiene libre acceso al alimento. Cuantificar la materia seca diaria que el animal consume es una medición compleja de realizar. Consecuentemente, las mediciones directas o estimaciones del consumo han sido del mayor interés de los investigadores dedicados a la nutrición. La exactitud de esta medición proporciona las bases para estimar los requerimientos nutricionales de un animal. La cantidad de materia seca consumida integra un gran número de factores, tales como las propiedades químicas de las plantas, las características físicas de la planta y del animal, el proceso fisiológico en el que se encuentra el animal, todo esto influido por una conducta alimenticia selectiva característica de los rumiantes, lo que provoca ajustes en los procesos digestivos (Burns *et al.*, 1994; Gutierrez, 1991; Laca *et al.*, 1998; Minson, 1990).

La estimación del consumo voluntario de animales en pastoreo se puede realizar directamente, a través del pesaje de los animales o de la medición de la producción de materia seca del forraje antes y después del pastoreo, o indirectamente, utilizando marcadores externos o bolsas colectoras de heces para determinar la producción fecal, en combinación con la medición de la digestibilidad (Forbes, 1995; Mayes *et al.*, 1986; Van Soest, 1982), utilizando la fórmula:

$$\text{Consumo (g/d)} = \frac{\text{Producción fecal (g)}}{(1 - \text{Digestibilidad de la dieta})} \quad (\text{ecuación 1})$$

Desde hace 20 años, Mayes *et al.* (1986) proporcionaron una técnica de doble marcación usando n-alcanos para la estimación del consumo voluntario, sin pasar por la medición de la producción fecal.

2.1.1 Estimación de la producción fecal

La recolección total de heces en animales en pastoreo, es decir, su medición directa en lugar de su estimación, se debe considerar como la primera opción, pero el procedimiento tiene desventajas. El trabajo que involucra el procedimiento es intenso, no solamente por la recolección en sí, sino por el entrenamiento y el mantenimiento de un grupo de animales convenientemente dóciles. Juntar a los animales una o dos veces al día para vaciar las bolsas de recolección fecal puede alterar su comportamiento y, por lo tanto, la producción de heces (Gutierrez, 1991; Kotb y Luckey, 1972; Van Soest, 1965 y 1982).

Las heces pueden escaparse de la bolsa recolectora y, excepto por la observación del suceso, la magnitud de este error es desconocida. Hatfield *et al.* (1993) concluyeron que, para los borregos castrados, las bolsas de recolección por sí mismas no ocasionan una mayor tensión, aunque investigaciones anteriores sugieren que el juntar a los animales dos veces al día sí genera tensión o cierto grado de estrés. Sin embargo, los refinamientos en arneses y técnicas han sido numerosos y han fortalecido un uso continuado de este procedimiento (Ingleton, 1971; Johnson *et al.*, 1998). Además, según lo precisado por Adams *et al.* (1991) y Momont *et al.* (1994), la recolección fecal total

puede ser necesaria con, por lo menos algunos animales, para supervisar el índice de la recuperación del marcador que es administrado a todos los animales en los experimentos en los cuales la estimación fecal se necesita en términos absolutos.

Por muchos años ha sido reconocido el uso de marcadores externos, como el óxido de cromo, para medir la producción fecal por la dilución del marcador en las heces, ofreciendo una considerable ventaja sobre la recolección total de heces. El principal beneficio es que sólo se necesitan una o dos muestras pequeñas de heces al día para obtener la información deseada (Drenan *et al.*, 1970; Kotb y Luckey, 1972; Piasentier *et al.*, 1995).

2.1.2 Marcadores

El marcador o indicador es un material usado en la valoración cuantitativa o cualitativa (generalmente indirecta) de fenómenos fisiológicos nutricionales. Los marcadores pueden usarse para estimar la producción fecal, la digestibilidad del forraje, el consumo voluntario, la composición botánica de la dieta y la tasa de pasaje de líquidos y sólidos por el tracto digestivo (Forbes, 1995; Kotb y Luckey, 1972).

Según Kotb y Luckey (1972), los marcadores fecales deben idealmente ser inertes, sin efectos tóxicos, fisiológicos o psicológicos, ni ser absorbidos ni metabolizados en el tubo digestivo y, por lo tanto, deben recuperarse totalmente en las heces; no deben ser voluminosos; deben mezclarse bien en el alimento y distribuirse uniformemente en la digesta; no deben tener ninguna influencia en los procesos de secreción, digestión, absorción, motilidad o excreción; no deben afectar a la microflora normal del anfitrión; deben tener calidades que permitan una medición cuantitativa rápida y exacta. Mucha de la investigación con marcadores fecales se ha centrado en maneras de remediar la falta de cumplimiento de algunos de estos requisitos, particularmente los relacionados con una recuperación completa y con la facilidad y precisión de la medición (Dove *et al.*, 2000; Laredo *et al.*, 1991; Mayes *et al.*, 1986).

Desde un punto de vista fisiológico, los marcadores pueden ser clasificados como absorbibles y no absorbibles. Los primeros se recuperan total o parcialmente en la orina (indicadores urinarios) y los segundos se recuperan casi completamente en las heces (indicadores fecales) (Forbes, 1995; Kotb y Luckey, 1972; Dove y Mayes, 2003) Los marcadores fecales se clasifican en:

- a) Externos: son indicadores sintéticos que se agregan a la dieta y que se administran de forma oral; por ejemplo, el polietilenglicol, yterrbium, el óxido de cromo, el n-alcano C₃₆. Los marcadores externos son sustancias que se dan durante lapsos de tiempo y a horas determinados, por lo que es necesario conocer la dosis diaria del indicador. La producción fecal se calcula mediante la siguiente fórmula (Burns *et al.*, 1994; Mayes *et al.*, 1986; Gutiérrez, 1991).

$$\text{Producción fecal (Kg MS/d)} = \frac{\text{Dosis del marcador (mg/d)}}{\text{Concentración del marcador en heces (mg/kg MS)}} \quad (\text{ecuación 2})$$

- b) Internos: son indicadores naturales que se encuentran en la dieta, como lo son algunos componentes de los forrajes como la lignina (Drenan *et al.*, 1970; Momont *et al.*, 1994), los cromógenos (Reid *et al.*, 1950) y las fibras detergente neutro y ácido (Lippke *et al.*, 1986; Waller *et al.*, 1980).

2.1.2.1 Óxido de cromo

El óxido del cromo (Cr₂O₃) es ligero (PM = 152.02), tiene un color verde oscuro, es prácticamente insoluble en agua, alcohol o acetona, pero ligeramente soluble en ácidos y álcalis, y ha sido el marcador externo posiblemente más usado para la valoración de la producción fecal (Adams *et al.*, 1991; Kotb y Luckey, 1972).

En 1964, Pigde y Brisson, mencionan que el principal problema con este marcador es que se mueve a través de la zona digestiva independientemente de las partículas del alimento

y las concentraciones fecales de Cr_2O_3 pueden, por lo tanto, exhibir una fuerte variación diurna. Para resolver este problema generalmente se recomienda dosificarlo dos veces al día, como mínimo. Algunas investigaciones han demostrado que la dosificación seis veces al día reduce significativamente la variación diurna, pero tal régimen se considera impráctico en cualquier situación. La preocupación por la variación diurna condujo al desarrollo y a la comercialización de un artefacto de liberación prolongada (ALP). Aunque la variación diurna se redujo considerablemente con el uso del ALP, era necesario verificar la velocidad de liberación del Cr_2O_3 con algunos animales en cada experimento. Los problemas con los análisis del Cr también se han ido resolviendo con el desarrollo de procedimientos relativamente sencillos para la preparación de la muestra y la determinación del Cr por medio de espectrofotometría de absorción atómica (Hatfield, et al., 1993; Parker., 1990).

La exactitud de la información sobre la producción fecal de animales en pastoreo depende, entonces, de tres condiciones: 1) la medición exacta de la cantidad de óxido de cromo a administrar; 2) la recuperación casi en su totalidad del cromo; 3) la obtención de muestras fecales mañana y tarde para la preparación de alícuotas.

2.1.2.2 *n*-Alcanos

Los *n*-alcanos son hidrocarburos alifáticos, formados por enlaces sencillos entre carbonos e hidrógenos, siendo su fórmula molecular general $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$. Los átomos de carbono son tetraédricos, con ángulos cercanos a 109° , lo que le da a la cadena una disposición de zigzag; la longitud del enlace sigma entre C-C tiene un valor constante de 153 picómetros (pm) y entre C-H, de 111 pm. Los *n*-alcanos carecen de grupo funcional, son relativamente polares y poco reactivos y las fuerzas de Van der Waals son las encargadas de atraer a los alcanos entre sí. Su cuantificación se realiza a través de la cromatografía de gases (Fig.1) (Kolattukudy, 1976; Martin, 1970).

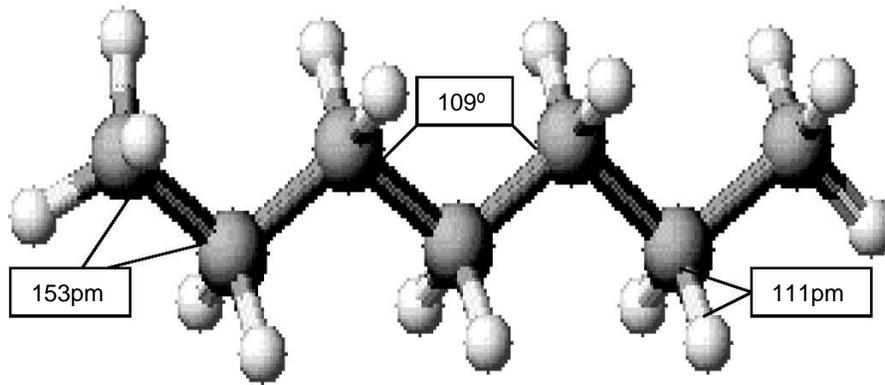


Figura 1. Estructura molecular del heptano (C₇).

Los n-alcanos se sintetizan en las células de la epidermis y se secretan en la zona tisular, distribuyéndose en la superficie de los vegetales (Fig.2), excepto los tallos y las ramas maduras de arbustivas, los insectos y los animales. Dentro de las funciones de los n-alcanos figuran constituir una barrera mecánica contra agresiones del medio; proteger; atrapar y absorber agua; controlar la pérdida de agua por transpiración (logrando su conservación); refractar la luz; controlar la temperatura, y evitar la invasión de microorganismos (parásitos) (Kolattukudy, 1976; Martin, 1970; Mausseth, 1988).

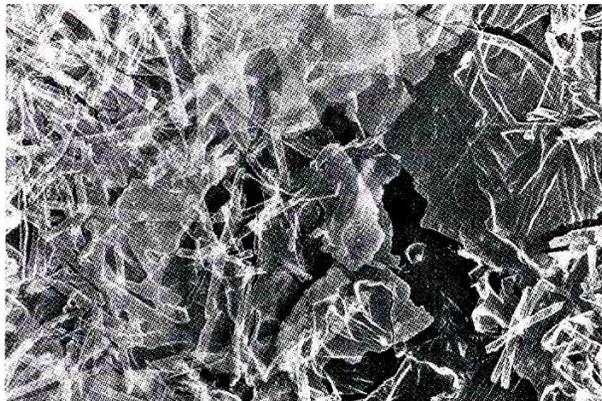


Figura 2. Superficie cuticular cubierta con la cera que está dispuesta sobre la epidermis en forma de placas, bastones, gránulos y otras variedades, la cual contiene a los n-alcanos, entre otros componentes. (Mausseth, 1988)

La composición química de la cera vegetal difiere según el tipo y la parte de la planta. Los componentes más comunes se enlistan a continuación (Butter, 1973; Fatar *et al.*, 1992; Kolattukudy, 1976; Martin, 1970; Dove, *et al.*, 2003):

- Hidrocarburos: cadenas largas y rectas de n-alcanos; alquenos de cadena larga.
- Ésteres de grasas: ésteres de ácidos grasos y alcoholes grasos de cadena larga
- Ácidos grasos libres de cadena larga
- Alcoholes grasos libres de cadena larga
- Aldehídos grasos de cadena larga y cetonas
- β - dicetonas
- Esteroles y otros componentes de la cera vegetal

En 1981, Grace y Body (citados por Mayes *et al.*, 1986) sugirieron que los ácidos grasos de cadena larga encontrados en el forraje podrían utilizarse como marcadores fecales. Mayes y colaboradores (1986) retomaron esta idea, pero en lugar de usar a los ácidos grasos de cadena larga, trabajaron con los n-alcanos encontrados en un rango de C₂₅ (n-pentaconsano) a C₃₅ (n-pentariacontano), donde predominan los n-alcanos impares (C₂₉, C₃₁, C₃₃) que son prácticamente indigestibles en el tracto gastrointestinal de los rumiantes y tienen, por lo tanto, una elevada recuperación fecal (por arriba del 90%) (Herbin *et al.*, 1969; Dove *et al.*, 1991, 1992, 2000, 2003).

Se han encontrado en los pastos niveles altos de los n-alcanos C₂₉ (n-hentriacontane), C₃₁ (n-hentriacontano) y C₃₃ (n-tritriacontane), mientras que en las leguminosas predominan los n-alcanos C₂₉ y C₃₁ (Delgado *et al.*, 2000; Dove y Moore, 1995; Dove *et al.*, 1992; Malossini *et al.*, 1990; Dove y Mayes, 1996; Piasentier *et al.*, 1995; Lee *et al.*, 2003; Vulich *et al.*, 1991, 1995).

Los n-alcanos pueden considerarse como marcadores internos, por ser parte constitutiva de la planta, y externos, por existir en forma sintética y poder dosificarse como C₃₂ y C₃₆. Por todos estos motivos se ha propuesto su uso como estimador del consumo voluntario, de la digestibilidad del forraje y de la composición botánica de la dieta (Dove *et al.*, 2003).

2.2 ESTIMACIÓN DEL CONSUMO

En la última década se han utilizado los n-alcenos de las plantas combinados con n-alcenos sintéticos para estimar el consumo individual de cada animal. Este concepto fue considerado primeramente por Mayes *et al.*, (1986) e involucrar la relación de un n-alceno impar presente en el forraje, generalmente C₃₁ o C₃₃, y un n-alceno par dosificado (C₃₂). La ecuación que se utiliza es (Dove *et al.*, 1991 y 2000):

$$\text{Consumo (g MS/d)} = \frac{(H_{31}/H_{32}) * D_{32}}{F_{31} - (H_{31}/H_{32}) * F_{32}} \quad (\text{ecuación 3})$$

Donde:

H = heces; F = forraje; D = dosis; 31,32 = concentración de estos n-alcenos en heces, forraje o cápsulas (dosis).

La ventaja de este método es que no es necesario estimar la producción fecal. La literatura indica que el uso del C₃₃ como marcador interno da mejores resultados que el uso de C₃₁ (Vulich *et al.*, 1995); sin embargo, el escoger al C₃₃ o C₃₁ como marcador interno tiene mucho que ver con la dieta que el animal escoge y con el tipo de especies forrajeras que se encuentren en las praderas (Dove y Mayes, 1991, 1996, 2000; Malossini *et al.*, 1990; Vulich *et al.*, 1991).

Esta metodología presenta varias ventajas, entre ellas que el resultado final es individual, que la técnica puede ser utilizada cuando los animales reciben en su alimentación un complemento alimenticio y que el análisis cromatográfico permite que los alcanos de la planta y el dosificado sean determinados al mismo tiempo, disminuyendo el error (Dove *et al.*, 2003).

2.3 DIGESTIBILIDAD

Uno de los grandes problemas para la estimación del consumo voluntario en animales en pastoreo es la relación que existe entre lo que comen y lo que digieren (Burns *et al.*, 1994). La digestibilidad de un alimento se define como la cantidad de lo que se consume

que no se excreta en las heces y que, por tanto, se considera absorbida por el animal (McDonald, 1988). Es importante tomar en cuenta que las heces no sólo contienen lo indigestible de la dieta, sino también otros productos, como son bacterias, células muertas y productos finales del metabolismo del animal. Con esto se indica que la digestibilidad aparente (DA) puede ser considerada como el balance de la pérdida de alimento en las heces, mientras que la digestibilidad verdadera (DV) es el balance entre la dieta y los residuos de alimento en las heces, excluyendo los productos metabólicos. La digestibilidad normalmente se expresa en relación con la MS como coeficiente o como porcentaje (Forbes, 1995; Van Soest, 1982).

La digestibilidad puede medirse:

a) *In vivo*: se utilizan animales en jaulas metabólicas, donde se manipula con gran exactitud la cantidad de alimento ofrecido, obteniendo, de esta manera, lo consumido. Con la ayuda de bolsas colectoras se determina la producción fecal. Así se consiguen los datos que permiten el cálculo de la digestibilidad con la siguiente ecuación (Van Soest, 1982):

$$\text{Digestibilidad} = \frac{\text{Consumo} - \text{Producción fecal}}{\text{Consumo}} \quad (\text{ecuación 4})$$

Las desventajas de este método son, principalmente el estrés que se le ocasiona al animal, la pérdida de material fecal, el uso intensivo de mano de obra, el tiempo involucrado y el suprimir la conducta selectiva del animal (Minson, 1990; McDonald, 1988).

b) *In situ*: consiste en poner muestras representativas de la dieta en bolsas de nylon, suspendidas en el rumen de animales fistulados durante un periodo de tiempo de al menos 48 hrs. Los factores que afectan estos resultados incluyen la fineza del molido de la muestra, el tiempo de digestión, el tipo de alimento, la apertura del poro de la bolsa y que no se toma en cuenta la digestión de los forrajes que se lleva a cabo en el tracto digestivo posterior, arrojando datos muy variables (Forbes, 1995; Gutierrez, 1991; Van Soest, 1982).

c) *in vitro*: este método consiste en realizar un simulacro, en el laboratorio, de la digestión de los forrajes en el tracto digestivo de los rumiantes. El método más utilizado ha sido el de Tilley y Terry (1963), el cual ha sufrido modificaciones a lo largo de los años.

Los factores que afectan los resultados de la digestibilidad *in vitro* son la variación en la población microbiana, debida principalmente a la dieta del animal; el origen de la muestra (almacenamiento, tamaño de molido); el tiempo de digestión (el tiempo de fermentación que se ha considerado como estándar para las dos etapas de digestión que es de 48 hrs.); el procesamiento del líquido ruminal; los errores en el pesaje.

Sus principales ventajas residen en que el coeficiente de digestibilidad puede ser determinado en un gran número de muestras y se requieren muestras pequeñas. El dato de la digestibilidad *in vitro* de la MS es el valor que se cita en la ecuación 1 para el cálculo de consumo (Dove, 1993; Gutierrez, 1991; Tilley y Terry, 1963; Van Soest, 1982).

A esta lista podría adicionarse un inciso más:

d) A través de n-alcanos como marcadores internos: la relación que existe entre el contenido de los n-alcanos (principalmente C₃₁ o C₃₃) en el alimento y en pequeñas muestras de heces de cada animal, proporciona una relación de la digestibilidad mediante la siguiente ecuación (Dove et al., 2000, 2003).

$$\text{Digestibilidad} = \frac{\text{g marcador/kg de heces} - \text{g marcador/kg de alimento}}{\text{g marcador/kg de heces}} \quad (\text{ecuación 5})$$

2.4 COMPOSICIÓN BOTÁNICA Y SELECTIVIDAD

El conocimiento de los hábitos alimenticios de los herbívoros es esencial para un eficiente manejo de las praderas. Esta información se requiere para buscar una óptima distribución de los forrajes entre los diferentes tipos de herbívoros, con el objetivo de seleccionar especies para la resiembra y tener un aprovechamiento de los forrajes encontrados en un lugar en específico (Gutierrez, 1991; Minson, 1990). Si la composición botánica o química

del forraje disponible en la pradera difiere de la del forraje consumido por los animales en pastoreo, esto es un indicador del pastoreo selectivo o de la selectividad. La diferencia entre lo disponible y lo consumido por los animales en pastoreo representa uno de los mayores problemas para hacer la evaluación precisa del valor nutritivo de las plantas forrajeras, ya que causa grandes variaciones en la composición botánica de la dieta del animal (Forbes, 1985; Malechek et al., 1981; Provenza et al., 2003; Van Soest, 1982)

En los últimos años se han realizado numerosas investigaciones acerca de la conducta alimenticia de los herbívoros técnicas para estimar la composición botánica de la dieta, las cuales incluyen: evaluación visual, análisis microhistológicos (fístula esofágica o muestra fecal) y separación manual (simulando la mordida) (Henley *et al.*, 2001; McInnis *et al.*, 1983; Sander, *et al.*, 1980; Vavra *et al.*, 1978).

Las técnicas fecales existentes confían en el análisis microhistológico de los fragmentos epidérmicos de la planta (Putman *et al.*, 1984). Estos métodos son laboriosos y son propensos al error, debido a las diferencias en la digestibilidad de las diferentes especies y partes de la planta. Además, la identificación inequívoca de una especie es difícil debido a la ausencia de una combinación única de las características epidérmicas que permitan la identificación (Henley *et al.*, 2001).

Recientemente, se han desarrollado dos técnicas que pueden permitir estimaciones más confiables de la composición de las dietas consumidas por animales en pastoreo. La primera técnica se basa en el control a distancia de una válvula esofágica (Raats *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 2001), que permite un muestreo más frecuente de lo que el animal consume. La segunda es una estimación de la composición de la dieta comparando las concentraciones de los alcanos del forraje con los de las heces, usando un análisis de mínimos cuadrados (Dove y Moore, 1995).

2.4.1 n-Alcanos

Los n-alcanos se están utilizando cada vez más como marcadores para estudiar el comportamiento selectivo de herbívoros en pastoreo. La técnica de los n-alcanos se ha utilizado con éxito para estimar la composición de la dieta de animales que pastorean en praderas con poca variedad vegetal (Laredo *et al.*, 1991; Henley *et al.*, 2001; Mayes y Dove, 2000; Vulich *et al.*, 1995); sin embargo, esta técnica no ha sido tan exitosa en animales alimentados con dietas que contienen más de cuatro componentes (Leury *et al.*

1999), aunque Dove et al., (1996) lograron identificar estadísticamente los componentes de una muestra de hasta 8 a 12 especies forrajeras.

El perfil de n-alcenos de las plantas puede utilizarse para estudiar, la selectividad de los animales, apoyándose en un sistema de ecuaciones, mediante el cual se determina la proporción consumida de cada fracción vegetal, basándose en las concentraciones de los n-alcenos presentes en las plantas y en las heces de los animales. Con la información sobre la concentración de n-alcenos en las diferentes especies de las praderas y la información sobre esos mismos n-alcenos en las heces y su porcentaje de recuperación (obtenido por ejemplo a partir de una prueba en jaulas metabólicas), se pueden determinar la composición botánica de la dieta, utilizando matemáticas de matrices (Newman *et al.*, 1988) o usando mínimos cuadrados no negativos (Dove y Moore, 1995).

Aunque, en una mezcla en teoría, el número de los componentes dietéticos que pueden ser discriminados está restringido solamente por los marcadores disponibles (n-alcenos), la utilidad de estos marcadores depende de que los patrones de concentración del alcano (PCA) en las diversas especies y componentes sean distintos (Dove y Mayes, 1996). Por lo tanto, la utilidad el uso de la técnica de los alcanos depende, en última instancia, de la contribución relativa a la dieta de la especie y partes de la planta y la variación (Smith et al. 2001).

3. JUSTIFICACIÓN

Entender la relación que existe entre los herbívoros y su hábitat, nos hace tener la necesidad de obtener información acerca de la dieta que ellos obtienen de su medio, realizándonos cuestionamientos como; ¿Cuánto consumen?, ¿Qué consumen? y ¿Dónde consumen?, para cubrir sus requerimientos nutricionales. Con esta información se podrán realizar modelos que ayuden a predecir la interacción medioambiente–animal–humano a lo largo de los años.

4. OBJETIVOS

- Comparar la producción de heces estimada por C_{36} y óxido de cromo.
- Estimar el consumo de forraje a través de la relación $C_{31}:C_{32}$ y la técnica de óxido de cromo/DIVMS.
- Comparar la digestibilidad estimada usando el consumo obtenido con la relación $C_{31}:C_{32}$ y la producción de heces por C_{36} con la digestibilidad estimada usando la relación $C_{31}:C_{32}$ y óxido de cromo como marcador fecal y utilizando C_{31} .
- Probar si la técnica de los n-alcanos es efectiva en ayudar a conocer la composición botánica de la dieta de animales en pastoreo.

5. HIPÓTESIS

- La diferencia entre la estimación de la producción fecal con C_{36} y la estimación en la producción fecal de óxido de cromo es menor a 3%.
- La diferencia en la estimación del consumo voluntario entre el método de los n-alcanos y del óxido de cromo / DIVMS es menor a 5%.

- La diferencia en la estimación de la digestibilidad del forraje entre el método $C_{31}:C_{32}/C_{36}$ y el método $C_{31}:C_{32}$ /óxido de cromo es menor a 2 puntos porcentuales.
- La metodología de n-alcenos permite estimar la composición botánica de la dieta.

MATERIAL Y MÉTODOS

La primera parte de este estudio se llevó a cabo en la Facultad de Química (UNAM), en el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, donde se prepararon las cápsulas de n-alcános C₃₂ y C₃₆ (Apéndice I). En el Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia (FMVZ-UNAM), se prepararon las cápsulas de óxido de cromo¹ (250 mg/cápsula).

Posteriormente, en agosto de 2004, se realizó la fase experimental, en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO), ubicado en la carretera federal a Cuernavaca Km. 53.1 del municipio de Hutzilac, Tres Marías, Morelos.

El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica (FMVZ-UNAM) y en el Laboratorio de Investigación del Departamento de Química Orgánica (FQ-UNAM). En el primero se llevaron a cabo los análisis químicos del forraje en estudio y en el segundo, los análisis de n-alcános de muestras de forraje, heces y cápsulas.

1. ANIMALES Y ÁREA DE PASTOREO

Doce corderos Suffolk machos, con pesos iniciales entre 35.7 y 44.7 kg (media = 40.75 ± 2.9 kg), pastorearon rotacionalmente en una pradera mixta de *Lolium perenne* (ryegrass), *Trifolium repens latum* (trébol blanco) y *Pennisetum clandestinum* (kikuyo), como forrajes dominantes, y *Brachiaria mediana hitche* (nativo), *Vulpia* sp (vulpia), *Dactylis glomerata*, (orchard) y arvenses (combinación principalmente de leguminosas nativas del lugar), como forrajes secundarios. Los animales pastorearon de las 8:00 a las 15:00-16:00 h, dependiendo de las condiciones climáticas (lluvia).

Como los corderos recibían alimento balanceado en el corral y nunca habían salido a pastorear, fue necesario acostumbrarlos paulatinamente al cambio de alimentación. Para que aprendieran a consumir forraje fresco, se les sacó a pastorear diariamente con el rebaño general y poco a poco se les fue limitando el acceso al concentrado y al heno de avena. Este periodo de adaptación duró 14 días. Una vez acostumbrados al pastoreo, los corderos se ubicaron en una pradera mixta de 6 hectáreas, la cual se fue subdividiendo

¹ Nombre del laboratorio # de catálogo.

en parcelas en los siguientes 15 días, durante los cuales los animales se familiarizaron con el cerco eléctrico.

Las parcelas tenían un área aproximada de 200-600 m². Las zonas de pastoreo se ubicaron donde el forraje estuviera lo más homogéneo posible y estuvieran representados todos los pastos mencionados, evitando la presencia de arbustos que pudieran alterar la investigación. Esto no fue fácil de lograr, ya que existía una gran disparidad en el crecimiento y en la presencia del forraje deseado en el área de estudio.

Una vez seleccionada el área, se delimitaba con cerco eléctrico, contando los pasos para conocer la superficie aproximada de pastoreo. El cerco eléctrico se estableció de la siguiente manera:

- a) El área de pastoreo se delimitó con postes de fibra de vidrio.
- b) Se colocaron tres hilos de electricidad para alcanzar una altura de 60 cm, logrando así que los ovinos no brincaran el cerco.
- c) Se conectaba la carga eléctrica (batería de 2.9 volts, con fotocelda de 3.9 volts).

El manejo de los animales durante esos 15 días en la pradera experimental fue el siguiente:

Se dosificó a los doce ovinos antes de salir a pastorear y a su regreso con cuatro cápsulas de gelatina, dos por la mañana (5:00 hrs) y dos por la tarde (17:00 hrs), una en cada turno que contenía 60-65 mg de dotriacontano (C₃₂) + 60 – 65 mg de hexatriacontano (C₃₆) y otra que contenía 250 mg de Cr₂O₃. Durante este periodo se obtuvieron las muestras de heces y forraje (perfectamente identificadas y sometidas a congelación), que después se analizaron en el laboratorio.

Debido a que los muestreos que se realizaron fueron múltiples y complejos, se describe simultáneamente a continuación el trabajo que se llevó a cabo tanto en el campo como en el laboratorio para obtener las diferentes mediciones.

2. MUESTREOS Y DETERMINACIONES

2.1 Cápsulas

Se realizó un muestreo del 10% de las cápsulas de n-alcenos dosificadas a los ovinos, las que se analizaron cromatográficamente para la obtención de la dosis promedio de C₃₆ y C₃₂ administradas a cada animal. La metodología utilizada fue la descrita por Mayes et al. (1986) y Dove y Mayes (1991, 2003) (Apéndice II).

2.2 Forraje

2.2.1 Determinación de la producción de MS en las parcelas experimentales

Campo: Se realizó un muestreo de tipo destructivo, utilizando un cuadrante de 1.25 m² en cada parcela, de la siguiente forma:

Antes y después de la introducción de los ovinos al área de pastoreo, se realizó el muestreo en cinco puntos al azar, lanzando el cuadrante dentro de la parcela.

- a) Muestreo antes del pastoreo: se realizó una vez colocado el cerco eléctrico y antes de que los animales se introdujeran a la parcela.
- b) Muestreo después del pastoreo: por razones de logística, este muestreo se realizó al día siguiente, una vez que los corderos se ubicaron dentro de la siguiente parcela.

Para la toma de muestras del forraje, el corte se hizo con tijeras de jardinero a nivel de suelo. El forraje se colocó en bolsas de papel, previamente taradas, que se identificaron y pesaron en una báscula granataria, manteniéndose en congelación hasta ser trabajado en el laboratorio.

Laboratorio:

- a) Las muestras de forraje se descongelaron a temperatura ambiente.
- b) Se secaron en un horno de convección a 50 °C por 24 horas, dejando a temperatura ambiente por 20 minutos, para obtener con mayor exactitud el peso constante y poder calcular así la materia seca, del inicio y final del pastoreo de un mismo día.

2.2.2 Determinación de la calidad del forraje en las praderas

Campo: De los 12 animales se escogieron cuatro al azar, los cuales se siguieron durante tres momentos diferentes en el día (8:00, 12:00 y 15:00 hrs.).

Las muestras del forraje se tomaron manualmente en las zonas donde consumía el forraje el ganado. La muestra se obtuvo simulando la mordida (Burns *et al.*, 1994). De esta manera se tomó muestra del forraje seleccionado por hora y por día. El material de cada borrego de una misma hora de muestreo se depositó en una misma bolsa. Una vez terminado el muestreo, el material se congeló en nitrógeno líquido y se colocó en un congelador hasta ser analizado.

Laboratorio: Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente y se realizó un “pool” de todas las submuestras por día. La materia seca (MS) se determinó en horno de convección, moliéndose las muestras posteriormente en un molino Wiley de tornillo, con criba de 1 mm. Se procedió a la determinación de proteína cruda (PC) y cenizas (AOAC, 1990), fibra detergente neutro (FDN) (Waldern, 1971) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (Tilley y Terry, 1963), para lo cual el líquido ruminal se obtuvo, vía sonda esofágica, de ovejas Suffolk que recibieron una dieta a base de heno de alfalfa y paja de avena.

2.2.3 Determinación de la composición botánica de las parcelas

Campo: Se siguió el mismo procedimiento descrito en el punto anterior, para la recolección de muestras de forraje, pero la composición botánica solamente se determinó del día 7 a 14 del periodo experimental.

Laboratorio: Las muestras por hora/día se descongelaron a temperatura ambiente, se pesaron en húmedo y se procedió a realizar la separación por especie vegetal. Cada especie se pesó nuevamente y se liofilizó. De esta manera, se obtuvo, el peso del forraje en BS (hora/día).

2.2.4 Determinación de la selectividad animal y determinación del perfil de n-alcenos por especie vegetal

Campo: Para la determinación de la selectividad y del perfil de n-alcenos por especie vegetal, el material vegetal se recogió al ir siguiendo a cada animal, colocándolo en bolsas separadas, para obtener así una muestra por animal/hora/día. Las muestras se congelaron en nitrógeno líquido y se colocaron en un congelador hasta ser trabajadas

Laboratorio: Las muestras correspondientes a cada uno de los cuatro corderos se descongelaron y se pesaron en una báscula granataria para proceder a separar las especies forrajeras.

Una vez separados los componentes vegetales, se pesaron cada uno en húmedo por hora/día, para obtener el porcentaje de cada especie vegetal que los animales seleccionaban. De esta manera se tuvo la composición botánica en BH; posteriormente, las muestras se liofilizaron, obteniendo de esta manera la información en BS. El material en seco correspondiente a cada especie vegetal se juntó en una sola muestra (sin importar animal/hora); de cada especie se obtuvo el análisis de cenizas (para el cálculo de materia orgánica) y el perfil de n-alcenos. Sólo se trabajaron las muestras de los días 7 a 14 del experimento (Anexo III). En el cuadro 1 se resumen los diferentes resultados que se obtuvieron del análisis del forraje.

2.3 Heces

Campo: Los marcadores externos necesitan de 5-7 días para estabilizarse en el medio ruminal, por lo que los muestreos se realizaron desde el día 1 hasta el día 14 del experimento para conocer con exactitud en qué momento se alcanzaba el equilibrio con el C_{36} , C_{32} y Cr_2O_3 .

Cuadro 1. Análisis de forraje realizados en el experimento.

<i>Determinación</i>	<i>Procedimiento</i>	<i>n</i>
Materia seca antes y después del pastoreo	Muestreo destructivo de cinco puntos (10 muestreos/día)	140
Calidad del forraje de cada parcela (PC, cenizas, FDN, DIVMS)*	Muestreo manual siguiendo a cuatro corderos, tres veces/día; "pool" de todas las sub-muestras (1 muestra/día)	14
Composición botánica promedio de una parcela	Muestra manual siguiendo a cuatro corderos, tres veces/día; "pool" de submuestras (una muestra por hora/día; solo días 7 al 14 del periodo experimental)	18
Selectividad	Muestreo manual, siguiendo a los cuatro animales, tres veces al día (sólo días 7-14 del experimento)	84
Perfil de n-alcanos por especie vegetal (7 especies)	Igual al anterior, pero con un "pool" de todas las especies por día (sólo días 7-14 del periodo experimental)	49

*PC=proteína cruda; FDN= fibra detergente neutro; DIVMS=digestibilidad *in vitro* de la materia seca

Los animales se muestrearon dos veces al día, antes de la dosificación (5:00 y 17:00 hrs). La obtención de las muestras se realizó de la siguiente manera:

- Se obtuvo una muestra de heces antes de la primera dosificación, que se utilizó como blanco, para conocer tanto el perfil como la concentración basal de los n-alcanos y la concentración basal de cromo.
- Las muestras se tomaron directamente del recto del animal, se colocaron en bolsas de plástico con un cierre hermético, se identificaron y se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido de 2 – 5 minutos, manteniéndose en congelación hasta su posterior análisis.

Laboratorio: En las heces se analizó la concentración de MS, PC, cenizas, FDN, concentración de cromo (Fenton y Fenton, 1979), concentración de n-alcanos C₃₂ y C₃₆ y perfil de n-alcanos (Mayes *et al.*, 1986; Mayes y Dove, 1991, 2003) (Apéndice III). La determinación de n-alcanos se hizo por cromatografía de gases y el cromo se midió por espectrofotometría de absorción atómica.

Manejo de las muestras:

1. Se descongelaron a temperatura ambiente.
2. Se obtuvo la materia seca deshidratando en un horno de convección a 50 °C por tres días, hasta alcanzar el peso constante.
3. Se mezclaron proporcionalmente las muestras de heces de la mañana y de la tarde de cada animal.
4. Se molieron en un molino de café (Broun de Moulinex).

3. CÁLCULOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Con la información obtenida se realizaron los siguientes cálculos (días 7 a 14 del período experimental):

3.1 Producción fecal por animal/día: a través de regresión lineal (JMP, 1993) se comparó la producción de heces estimada por C_{36} y Cr_2O_3 , utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Producción fecal (g/d)} = \frac{\text{Marcador administrado (mg/d)}}{\text{Marcador en heces (mg/g)}}$$

3.2 Consumo de forraje: se estimó en dos formas

- a) Por el método de los n-alcanos, a través de la relación $C_{31}:C_{32}$ y $C_{33}:C_{32}$, utilizando la siguiente ecuación (Dove y Mayes, 1991,1996):

$$\text{Consumo (g MS/d)} = \frac{(H_{31}/H_{32}) * D_{32}}{F_{31} - (H_{31}/H_{32}) * F_{32}}$$

donde:

H = heces; F = forraje; D = dosis; 31,32 = concentración de n-alcanos en heces, forraje o cápsulas (dosis).

- b) Por el método de óxido de cromo/DIVMS: conociendo la producción fecal y la DIVMS, puede estimarse el consumo:

$$\text{Consumo de MS (g/d)} = \text{Producción fecal} / (1 - \text{DIVMS})$$

Los métodos se compraron por regresión lineal (JMP, 1993).

3.3 Digestibilidad: se estimó en dos formas:

- a) Determinación de consumo ($C_{31}:C_{32}$) y producción fecal (C_{36}) por alcanos:

$$\text{Digestibilidad \%} = \frac{\text{MS consumida (C}_{31}:C_{32}) - \text{MS excretada (C}_{36})}{\text{MS consumida (C}_{31}:C_{32})} * 100$$

- b) Determinación de consumo por alcanos ($C_{31}:C_{32}$) y producción fecal por óxido de cromo:

$$\text{Digestibilidad \%} = \frac{\text{MS consumida (C}_{31}\text{:C}_{32}) - \text{MS excretada (Cr}_2\text{O}_3) * 100}{\text{MS consumida (C}_{31}\text{:C}_{32})}$$

- c) Utilizando el C_{31} como marcador interno:

$$\text{Digestibilidad \%} = \frac{\text{g marcador/kg de heces} - \text{g marcador/kg de alimento}}{\text{g marcador/kg de heces}}$$

Los métodos se compararon por regresión lineal (JMP, 1993).

3.4 Selectividad de los animales: con la información sobre la concentración de n-alcanos en las diferentes especies de las praderas y la información sobre esos mismos n-alcanos en las heces y su porcentaje de recuperación, se determinó la composición botánica de la dieta, utilizando mínimos cuadrados no negativos (Dove y Moore, 1995; SPSS, 1993).

Apéndice I

Preparación de cápsulas de n-alcános C₃₆ y C₃₂

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica, del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química, bajo la supervisión del Ing. Joaquín Pérez Ruelas y de la Q.F.B. Liliana Aguilar.

Ingredientes

MATERIA PRIMA	CANTIDAD UNITARIA (g)	CANTIDAD TOTAL 50 CÁPSULAS (G)
n-Alcano c ₃₂ ²	0.075	3.75
n-Alcano c ₃₆ ³	0.075	3.75
Tween #20	0.0410	2.05
Aceite vegetal	0.100	5
Lactosa	0.04	2
Avicel	0.310	15.5
Total	0.641	32.05

² Sigma Chemical No Catálogo D4634

³ Sigma Chemical No Catálogo H1 255-2

Material para la preparación de cápsulas

- ❖ 2 vasos de precipitado de 250 ml
- ❖ 1 vaso de precipitado de 50 ml
- ❖ 2 espátulas cromo niquel
- ❖ 1 calentador
- ❖ 3 agitadores de vidrio
- ❖ 1 baño maría
- ❖ 1 tamiz no.20
- ❖ 1 charola
- ❖ Papel encerado
- ❖ Bolsas de plástico
- ❖ Báscula granataria
- ❖ Cápsulas de gelatina, #1

Descripción del proceso

1. En un vaso de precipitado de 250 ml se depositan los n-alcanos, el aceite y el tween.
2. En un vaso de precipitado de 250 ml se pesa el avicel.
3. En un vaso de precipitado de 50 ml se pesa la lactosa.
4. Los n-alcanos, aceite y tween se calientan hasta lograr que los n-alcanos se derritan a una temperatura aproximada de 70°C.
5. Esta mezcla se pasa al baño maría previamente calentado, añadiéndole lentamente el avicel con un constante movimiento circular.
6. Se añade la lactosa a la mezcla, siempre manteniendo el movimiento circular.
7. Se enfría a temperatura ambiente, sin dejar de mover la mezcla.
8. Se forra la charola con papel encerado.
9. Se tamiza la mezcla y se vacía en una bolsa, previamente pesada, homogenizando por 10 min.
10. Se llenan las cápsulas con 641 mg del material cada una, lo cual asegura 60 - 65 mg de C₃₂ y 60 - 65 mg de C₃₆ en cada cápsula (32.05 g /50 cápsulas = 0.641 g / cápsula).

Apéndice II

Valorización de la concentración de n-alcános en las cápsulas administradas a los corderos.

Material

- ❖ Soxhlet
- ❖ Matraz de bola 250 ml
- ❖ Matraz de aforo de 100 ml
- ❖ Matraz de aforo de 50 ml
- ❖ Matraz de aforo de 10 ml
- ❖ Pipetas de 1 ml
- ❖ Heptano 100 ml/por muestra
- ❖ Cartuchos de celulosa
- ❖ Rotavapor
- ❖ Viales de borosilicato de 2ml con tapa

Reactivos

- ❖ Heptano (C7) (J.T.Baker, 99.5%)
- ❖ Estándar interno (Anexo IV) (C₃₄).
- ❖ Solución hidroalcohólica de KOH etanólico (Anexo IV)
- ❖ Columna de sílica gel (Anexo IV)

Procedimiento

1. La cápsula abierta se introduce en el cartucho de celulosa, que se coloca en el soxhlet. Se colocan 70 ml de heptano en un matraz de bola de 250 ml.
2. El heptano se pone en ebullición en la parrilla por 2.5 h (90°C).
3. Después de transcurridas las 2.5 h, el contenido se afora a 100 ml se homogeniza, se toma 1 ml y se vierte en un matraz de aforo de 10 ml.
4. Al matraz de aforo se le adiciona 1 ml de estándar interno, (C₃₄ 2.1 X10⁻³ M).
5. Se toma de ahí la muestra para realizar la lectura en el cromatógrafo de gases.

Apéndice III

Determinación de n-alcános en muestras de forraje y heces (Mayes et al; etc)

Material

- ❖ Balanza
- ❖ Espátula
- ❖ Matraz de bola de 50 ml
- ❖ KOH
- ❖ Jeringas de 12 ml
- ❖ Silica gel
- ❖ Pipetas pasteur de 1 ml
- ❖ Viales de vidrio de 1 ml con tapa de baquelita
- ❖ Baño maría
- ❖ Soporte universal
- ❖ Refrigerantes
- ❖ Heptano
- ❖ Rotavapor

Procedimiento

1. Pesar 1 g de muestra, introducirlo al matraz de 50 ml con 5 ml de KOH y colocar en el baño maría por 3:5 h.
2. Realizar tres lavados del matraz con heptano, cada uno de 10 ml; con la pipeta Pasteur obtener el sobrenadante que se coloca en matraz de 250 ml.
3. Recuperados los 30 ml, colocar la muestra en el rotavapor, evaporarla hasta que quede una mínima cantidad, tomar con la misma pipeta Pasteur y vertir en la columna de sílica gel, por la que se filtran 10 ml de heptano.
4. Recuperar el heptano en un matraz de 10 ml a evaporar casi por completo en el rotavapor. El sobrante se toma con una pipeta, dándole un ligero lavado con heptano al matraz para así vaciarlo a un vial, identificado y perfectamente sellado.
5. Leer en cromatógrafo de gases: con una temperatura dependiente de la volatilidad de la muestra (0-450°C), y un tubo capilar de 10-30 m de longitud y 0.1-0.5 mm de diámetro y el tiempo de retención varia de 1-30 minutos

Anexo IV

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 CÁPSULAS

El análisis cromatográfico de las cápsulas dosificadas a los corderos indicó que la concentración promedio del n-alcano C₃₂ fue 60.03 ± 0.0056 mg y del C₃₆, 59.7 ± 0.0045 mg. El resultado está dentro del rango de 60-65 mg con el cual se trabajó en la preparación de las cápsulas. Esto significa que la metodología empleada fue correcta y puede utilizarse en estudios subsiguientes que involucren la dosificación de n-alcanos. El valor promedio utilizado en los cálculos en los que el C₃₂ y C₃₆ (producción fecal y consumo) fue de 60 mg para cada n-alcano, (Anexo III).

Existen en el mercado dispositivos de liberación prolongada de n-alcanos, pero el problema con ellos es que la tasa de liberación señalada deberá forzosamente ser comprobada con algunos animales y, de ser necesario, ajustarse. Esto implica mayor trabajo y mayor costo. Por esta razón, se considera más recomendable elaborar las cápsulas.

7.2 FORRAJE

7.2.1 Producción de MS en las parcelas experimentales

La superficie aproximada de pastoreo de las 14 parcelas experimentales estuvo en un rango de 200-900 m² (Cuadro 2). Antes del pastoreo, el rango de forraje presente en las parcelas osciló entre 800 -1500 Kg MS/Ha y después del pastoreo de los 12 corderos fue de 400-900 Kg MS/Ha (Cuadro 2 y Fig. 3).

En el Cuadro 2 se puede observar la variación que hubo en el tamaño de las parcelas entre los diferentes días. El cálculo de la superficie fue muy burdo y las parcelas idealmente debieron haber sido muy similares en superficie; sin embargo, en la práctica esto fue difícil de lograr. La experiencia que se obtuvo en esta parte del estudio, a través de la observación de los corderos, fue que es preferible dar un mayor espacio a los animales cuando se realizan estudios de selectividad. La superficie que pareció dar más comodidad a los animales fue la de 900 m².

La Fig. 3 muestra más claramente el efecto de pastoreo, lo cual indica que el tipo de muestreo realizado fue sensible a los cambios en la cantidad de forraje presente debido al consumo animal. La técnica, sin embargo, no está ausente de problemas. Uno es la contaminación con suelo (forraje pisoteado), que puede requerir el ajuste por contenido de cenizas y la expresión de los resultados sobre la base de materia orgánica. Otro problema es el crecimiento normal del forraje, que puede dar lugar a una subestimación de la cantidad de forraje consumido o a una sobreestimación de la cantidad de forraje presente después del pastoreo. Por último, el número de muestras tomadas para proporcionar una estimación adecuada de la producción forrajera no siempre puede ser el correcto en el caso de praderas heterogéneas (Gutiérrez, 1991).

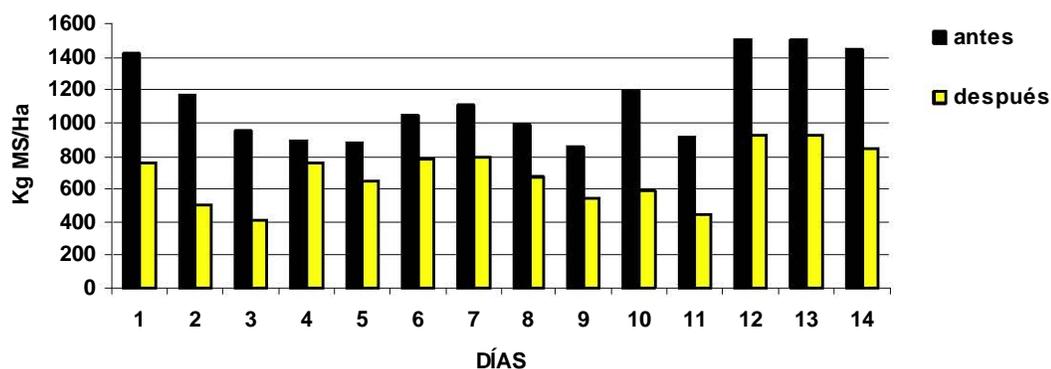


Figura 3. Cantidad de forraje presente en cada parcela durante el experimento, antes y después del pastoreo (Kg MS/Ha).

Con la información sobre la cantidad de forraje presente por Ha en cada parcela y la superficie de la parcela, se calculó la cantidad de forraje en cada parcela antes y después del pastoreo (Cuadro 2). La diferencia entre esas dos cifras representa la cantidad aproximada de MS consumida por los 12 corderos. Esta diferencia se dividió entre el número de animales, obteniendo de esta forma el promedio de MS que cada cordero consumió en un día (Cuadro 2).

Esta manera de calcular el consumo voluntario funciona de forma relativamente confiable en lugares planos y donde el forraje a consumir sea únicamente pasto, pero en praderas que presentan arbustivas y pocas planicies es inaceptable (Forbes, 1995). Además, la información obtenida es el promedio de un grupo de animales, lo cual, en estudios de consumo voluntario, no es de gran utilidad debido a la gran variación que existe en el consumo de MS entre animales (Minson, 1990). Por ejemplo, en este caso el consumo promedio fue de 1.33 kg MS/animal, una estimación un poco elevada para animales que pesan 43.5 kg (3% del peso) y que están en pastoreo. La desviación estándar fue de casi 20% en los 14 días. Sin embargo, este dato de alguna manera proporciona información que puede servir de base para comparar con otras técnicas y, así, obtener datos con mayor credibilidad.

7.3 CARACTERÍSTICAS DEL FORRAJE EN LAS PARCELAS DE EXPERIMENTACIÓN

7.3.1 Determinación de la concentración de MS y MO

La concentración de la MS del forraje promedio presente en las diferentes parcelas experimentales osciló entre 13.2% y 17.9% (media= $14.9 \pm 1.3\%$), durante los 14 días de experimentación. Como se puede observar en la Fig. 4, la concentración de MS fue aumentando paulatinamente hasta el día 9. Hay que recordar que la extensión de terreno destinada al experimento se fue dividiendo en parcelas, que variaron en tamaño (ver inciso 2.1). A partir del día 11 del periodo experimental se volvieron a pastorear las parcelas iniciales. De ahí que la madurez fuera aumentando, lo que también se vio reflejado en las concentraciones de FDN (ver más adelante). El dato del día 10 (13.8% MS) pudo haberse debido a que se trataba de un forraje más joven; no que hay que olvidar que la pradera asignada al trabajo de experimentación era muy heterogénea en cuanto a la edad del forraje.

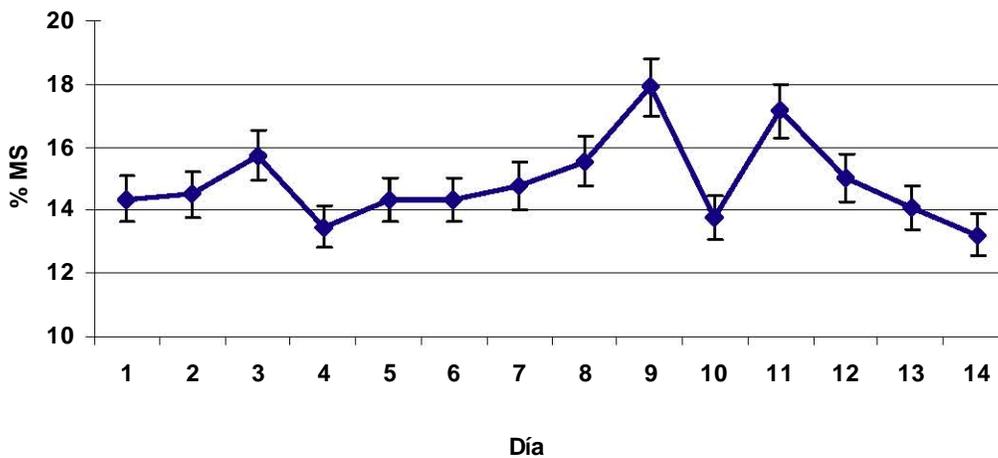


Figura 4. Porcentaje de materia seca (MS) en el forraje de las parcelas.

Para el cálculo de la concentración de la MO se necesita de la información sobre la concentración de cenizas en el forraje. La Fig. 5 muestra esa información; puede observarse que entre los días 3 y 9, la concentración de cenizas osciló entre el 1.1 y 1.3%, con valores un poco más extremos los dos primeros días de pastoreo. Entre los días 10 y 14, la concentración de cenizas disminuyó un poco, probablemente debido a que se trataba de forraje más joven, pues se volvieron a utilizar los sitios de los primeros pastoreos. La literatura indica que en el trébol y los pastos orchard, ryegrass y kikuyo la concentración de cenizas oscila entre 1.8 y 2.6% (Ensminger et al., 1990)

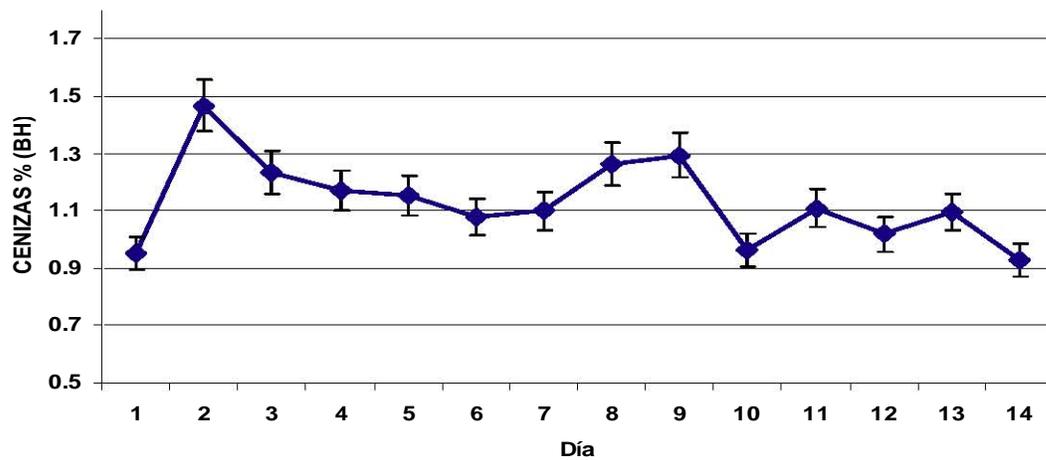


Figura 5. Concentración de cenizas en el forraje de las parcelas.

Lógicamente, la concentración de MO fue menor que la de MS y siguió el mismo patrón observado para MS (Fig.6). La media fue de $13.4 \pm 1.8\%$. Muchos investigadores prefieren trabajar con base en la MO del forraje en lugar de la MS porque la MO es la que está directamente relacionada con la producción de proteína microbiana en el rumen (Goetsch y Owens, 1988).

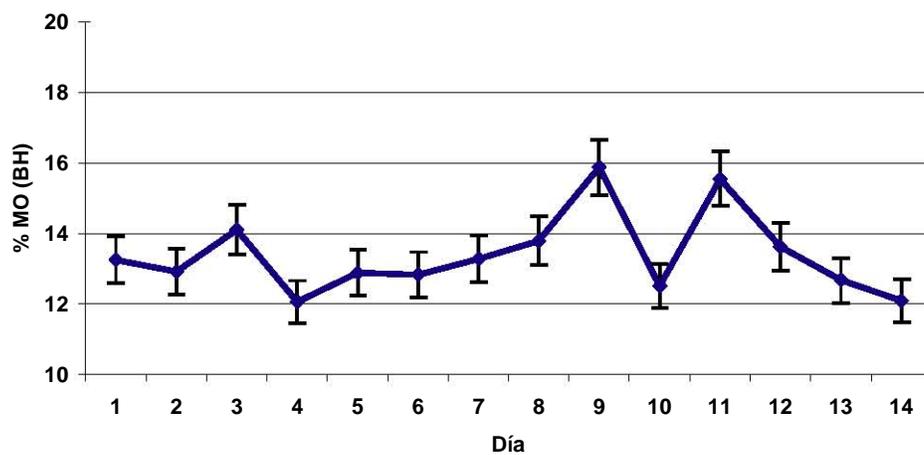


Figura 6. Concentración de la materia orgánica (MO) en el forraje de las parcelas. BH=base húmeda.

7.3.2 Estimación de la concentración de PC

La Fig. 7 muestra el cambio en la concentración de PC presente en el forraje durante el experimento. Puede observarse que entre los días 2 y 5 la concentración fue muy constante, disminuyó entre los días 6 y 9 y fue aumentando hacia el final del experimento. Los valores menores estuvieron relacionados con los valores más elevados de FDN en el forraje (ver más adelante). La mejoría observada en la concentración de PC al final del experimento se debió probablemente al retorno a los lugares iniciales de muestreo, en los cuales el forraje había rebrotado y era más joven.

El valor promedio de PC fue de $17.5\% \pm 2.6$, con un rango de 13.5 a 22.1%. Considerando los valores promedio de PC del forraje en el CEIEPO para la época de lluvias (17.05% a 23%), estos porcentajes están dentro de lo correcto.

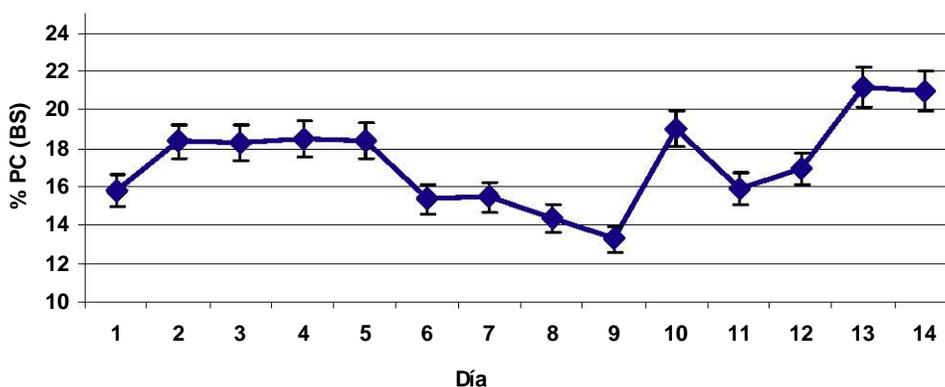


Figura 7. Concentración de proteína cruda (PC) en el forraje de las parcelas.

7.3.3 Estimación de FDN

La Fig. 8 muestra cómo la madurez del forraje, expresada como FDN, fue aumentando hasta los días 8 y 9 del experimento (excepto el dato del día 6, lo cual podría deberse a que ese día el forraje muestreado era ligeramente más joven). A partir del día 11 los animales volvieron a las parcelas iniciales, en las cuales el forraje era más joven, lo que se reflejó en una menor concentración de FDN, que se mantuvo muy estable en los últimos días. Estos valores de FDN explican en parte los resultados de PC y, en menor

medida, los de MS. Es bien sabido que al aumentar la edad del forraje, aumenta la concentración de FDN y disminuye la PC (Van Soest, 1982). El valor promedio de FDN fue de $58.3\% \pm 10.8$, con un rango de 37 a 72%

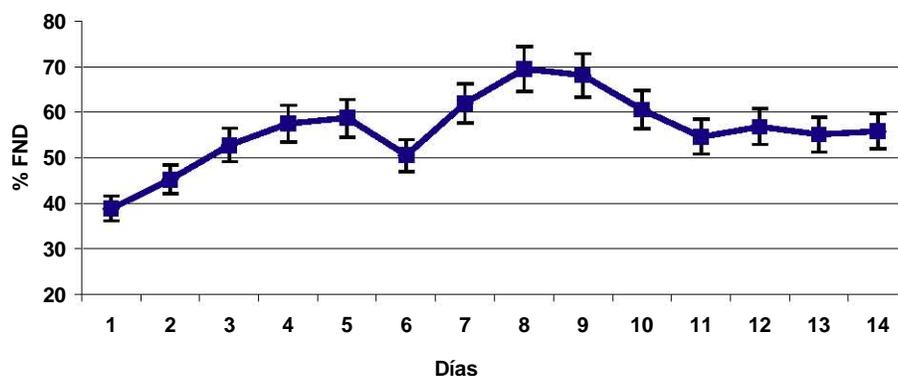


Figura 8. Concentración de la fibra detergente neutro (FDN) en el forraje de las parcelas.

7.3.4 Estimación de la DIVMS

En la Fig. 9 puede apreciarse cómo la DIVMS aumentó del día 1 a 3 del experimento y después fue disminuyendo hasta el día 8. La DIVMS se elevó nuevamente en el día 10 para terminar en un valor de 70% en el día 13. El dato del día 14 no se incluye porque no se consideró confiable. La DIVMS promedio fue de $73 \pm 2.4\%$, con un rango de 70 a 76.2%.

La disminución de la DIVMS se explica en parte por el aumento en la madurez del forraje (Fig. 7). El día 10 muestra un valor elevado de DIVMS (75.8 %), aunque la concentración de FDN fue de 65% (Fig. 8). Lo que podría ayudar a explicar esta contradicción es el hecho de que la concentración de PC fue también elevada (19.1%, Fig.7), aunque no se observó el mismo fenómeno en el día 13. La literatura indica que la PC está positivamente correlacionada con la digestibilidad y negativamente con la pared celular (Van Soest, 1982).

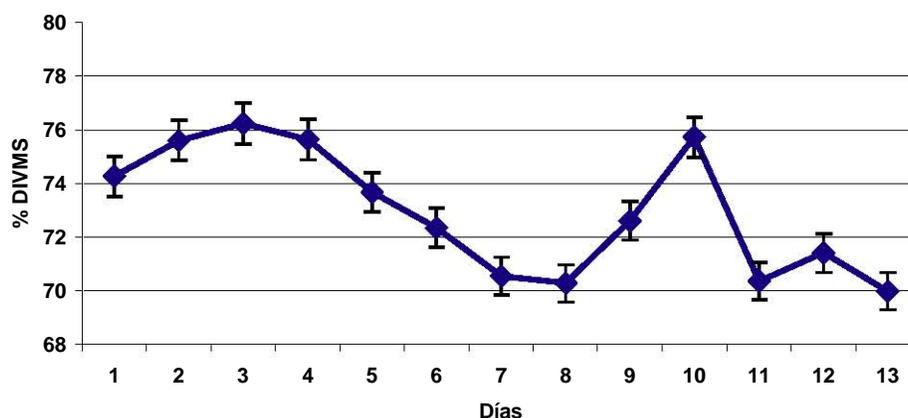


Figura 9. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) del forraje consumido por doce corderos durante el experimento.

7.3.5 Perfil de n-alcenos del forraje promedio de las parcelas experimentales

El Cuadro 3 muestra la concentración de los n-alcenos impares (C_{25} a C_{35}) y del n-alceno C_{32} en el forraje promedio de cada parcela (Anexo V). Estos valores se usaron para los cálculos de consumo según la fórmula de Dove y Mayes (1991; sección 6.2.2.4 de Material y Métodos) y para los cálculos de selectividad. Como era de esperarse las concentraciones de C_{32} fueron muy bajas, pero aún así este n-alceno debe considerarse en los cálculos de consumo, pues el n-alceno dosificado fue precisamente el C_{32} . Los n-alcenos más abundantes en el forraje promedio fueron C_{31} , C_{33} y C_{29} .

Cuadro 3. Concentración de los n-alcenos impares (C_{25} a C_{35}) y del C_{32} en el forraje promedio presente en las parcelas experimentales.

Parcela (día)	n-alceno (mg/Kg MS)						
	C_{25}	C_{27}	C_{29}	C_{31}	C_{32}	C_{33}	C_{35}
7	22.72	43.25	149.40	194.56	18.51	188.44	110.62
8	27.80	44.20	104.17	192.03	15.12	167.69	84.87
9	26.23	52.97	148.46	251.58	14.57	251.19	54.62
10	26.17	41.43	128.04	184.13	12.66	153.37	40.83
11	30.67	56.66	98.08	176.64	14.00	252.95	88.92
12	43.46	36.75	138.54	154.96	13.76	134.67	48.83
13	20.54	38.93	119.08	155.54	11.11	121.21	60.95
14	23.60	46.67	142.32	200.92	13.14	134.09	94.31

7.3.6 Perfil de n-alcenos de las especies forrajeras presentes en las parcelas

Las figuras 10 a 16 muestran el perfil de n-alcenos (mg/kg MS) de los pastos kikuyo, ryegrass y *Brachiaria*, de las arvenses y del trébol y de los pastos orchard y vulpia, respectivamente. Se presenta la concentración de los n-alcenos impares C₂₁ a C₃₅. La concentración de los n-alcenos pares (0.8-23 mg/kg MS) puede encontrarse en el Anexo VI.

Los n-alcenos que más interesan desde el punto de vista predictivo son el C₃₁ y el C₃₃. El pasto kikuyo tuvo concentraciones elevadas y bastante constantes durante el experimento de C₃₃ y un poco más variadas de C₃₁. Por el contrario, el ryegrass tuvo concentraciones mucho más elevadas de C₃₁ que de C₃₃, pero ambos n-alcenos fueron muy constantes. Lo mismo sucedió con la *Brachiaria*, las arvenses, el trébol y los pastos orchard y vulpia, aunque hubo un poco más de variación a través del tiempo. En el caso del trébol, esta leguminosa no estuvo presente en las parcelas de los días 7, 9 y 10, mientras que los pastos orchard y vulpia fueron aún más escasos.

Las concentraciones de n-alcenos aquí encontradas fueron similares a las consignadas en la literatura por Duncan *et al.*, (1999) y Delgado *et al.* (2000). Sin embargo, se encontraron diferencias en las concentraciones de C₂₉ a C₃₃ de vulpia y orchard con respecto a lo señalado para esos forrajes por Dove y Mayes. (1991, 2003). La literatura indica que las concentraciones de los n-alcenos están influenciadas por la especie de la planta (90%) (Englinton *et al.*, 1962; Dyson y Herbin, 1968), la parte de la planta y la edad (6%, Dove y Mayes, 1996). Chen *et al.* (1988) encontraron que el ambiente y el sitio de muestreo tienen también una gran influencia en la concentración de n-alcenos.

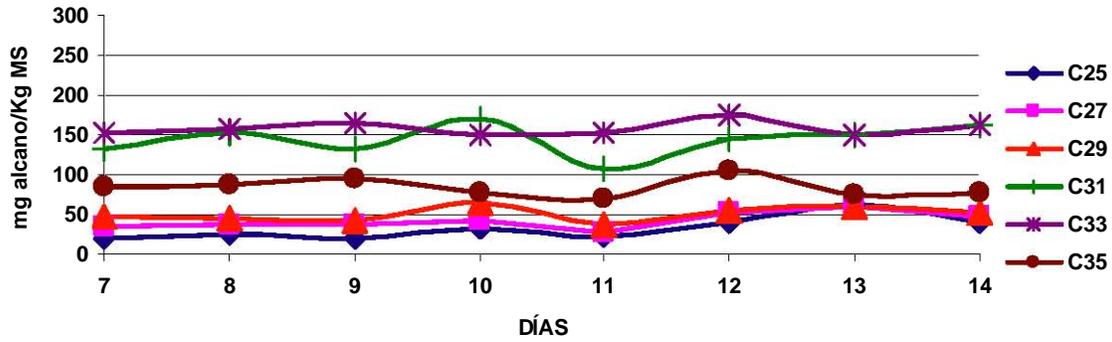


Figura 10. Concentración de n-alcenos presentes en el pasto kikuyo durante la fase de experimentación del estudio.

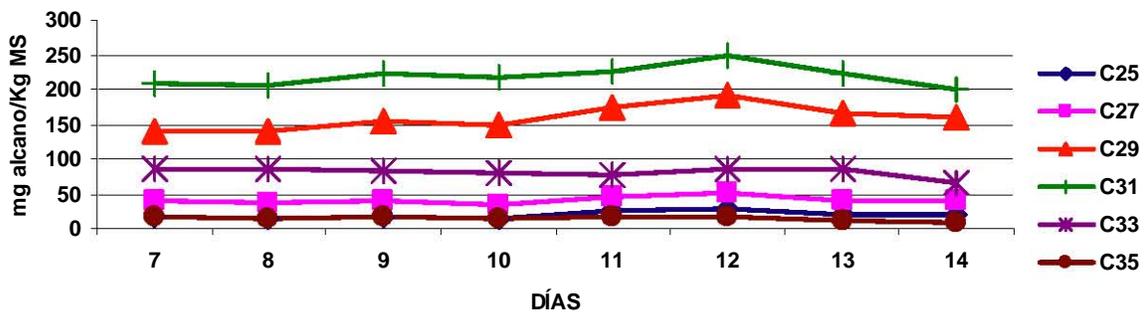


Figura 11. Concentración de n-alcenos presentes en el pasto ryegrass durante la fase experimental del estudio.

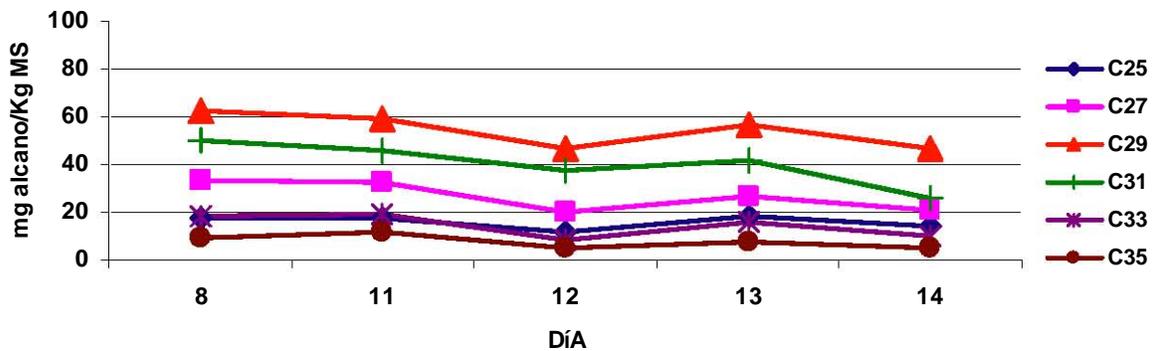


Figura 12. Concentración de n-alcenos presentes en el trébol durante la fase de experimentación del estudio.

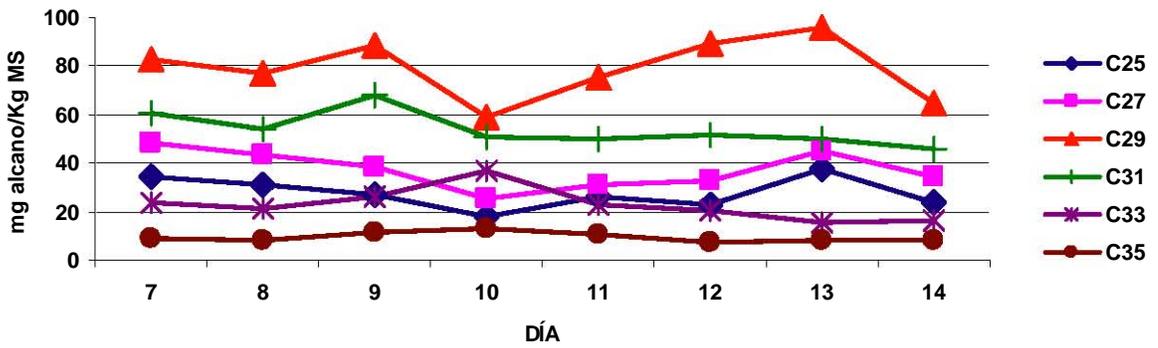


Figura 13. Concentración de n-alcenos presentes en el pasto *Brachiaria Mediana Hitche* durante la fase de experimentación del estudio.

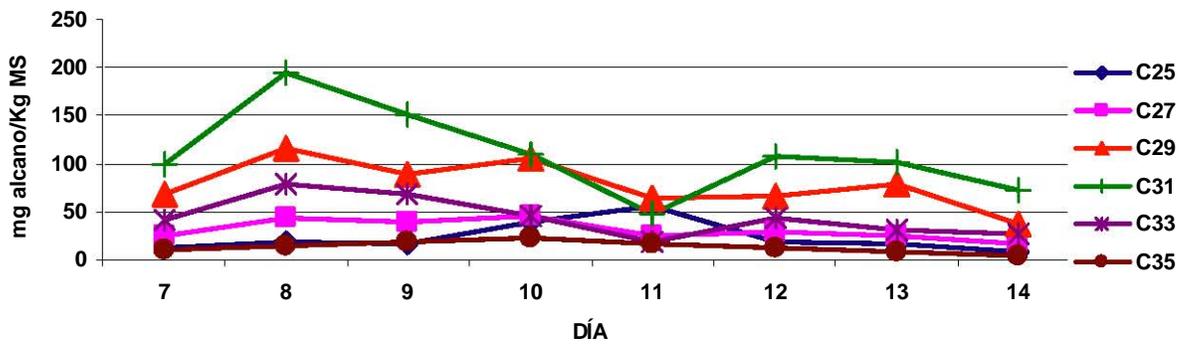


Figura 14. Concentración de n-alcenos presentes en las arvenses durante la fase de experimentación del estudio.

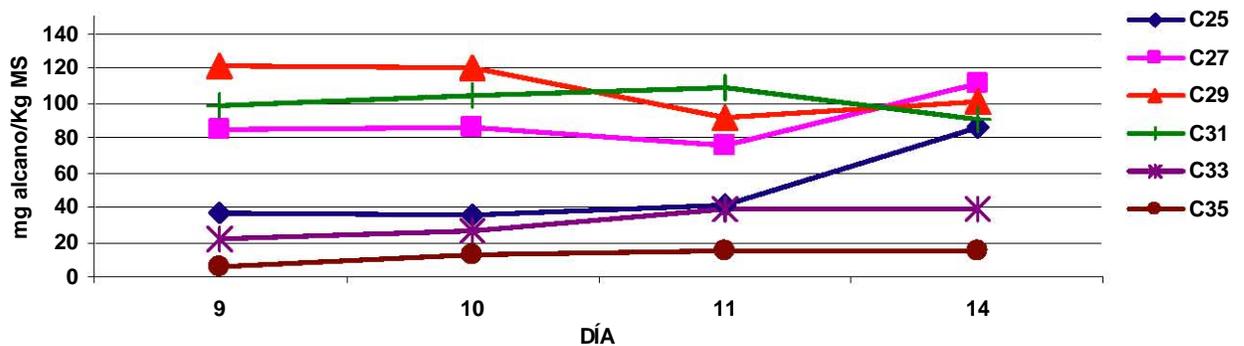


Figura 15. Concentración de n-alcenos presentes en el pasto orchard durante la fase de experimentación del estudio.

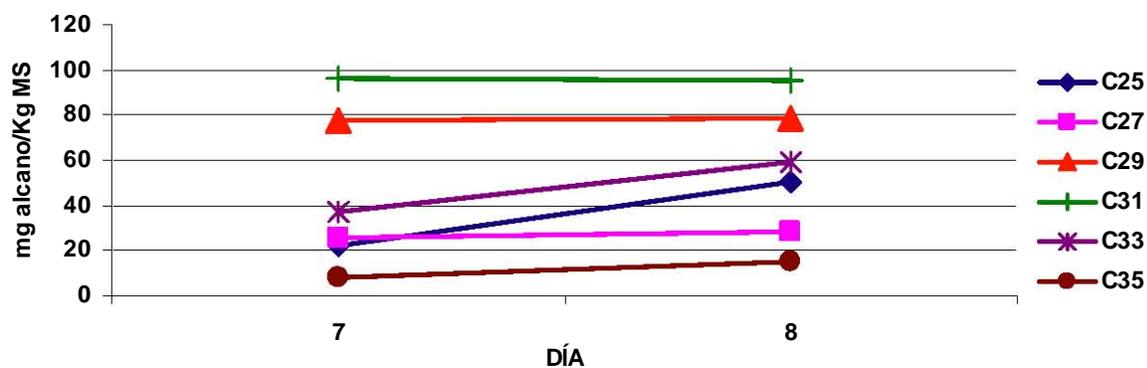


Figura 16. Concentración de n-alcános en el pasto vulpia durante la fase experimentación del estudio.

La leguminosa se comportó como se esperaba, pero la concentración de C₂₉ fue menor a la consignada en otras investigaciones (Dove y Mayes, 1996; Smith *et al.*, 2001), a excepción de Hameleers y Mayes (1998), quienes encontraron valores semejantes. Con relación a la *Brachiaria* sólo existe información de otras especies (Delgado *et al.*, 2000), que indica que la concentración de n-alcános en la *Brachiaria decumbens* iba de 2.09 a 339.98 mg/kg MS. *Brachiaria mediana* posee una gran cantidad de vellosidades, que posiblemente contribuyan a la concentración de n-alcános; una parte de las vellosidades se quedaba atrapada en las aspas del molino, pero siempre se hizo un esfuerzo por recuperar lo mejor posible el material vegetal.

Los trabajos de Reyes (2004) y Montes (2005) han dejado en claro que las concentraciones de n-alcános en una misma especie van a variar dependiendo de una serie de factores (lugar, clima, precipitación pluvial, edad de la planta, etc.). Por lo tanto, en cualquier estudio en el que se considere la utilización de n-alcános como marcadores deberá realizarse la determinación del perfil de la(s) planta(s) en cuestión, es decir, no podrá recurrirse a un valor promedio de la literatura para hacer los cálculos pertinentes.

7.4 COMPOSICIÓN BOTÁNICA DE LAS PARCELAS Y ESTIMACIÓN DE LA SELECTIVIDAD

7.4.1 Composición botánica

La separación manual de las muestras de forraje obtenidas en dos o tres diferentes momentos durante el día indicó que las especies más abundantes fueron, en general, el kikuyo, el ryegrass y la *Brachiaria*. Sin embargo, en cada parcela experimental (o día) la contribución de las diferentes especies fue cambiando, como se observa en la Fig. 17. Por ejemplo, en el día 7, en la pradera experimental predominaron los pastos kikuyo y *Brachiaria*; la presencia de ryegrass fue poca y hubo algo de arvenses, orchard y vulpia. El día 8, la distribución fue parecida, pero hubo mayor presencia de arvenses y la parcela tenía algo de trébol. Las parcelas de los días 9 y 10 tuvieron presencia importante de ryegrass. A partir del día 10 fue disminuyendo la cantidad de *Brachiaria* en las parcelas y fue aumentando moderadamente la presencia de trébol. Las arvenses siempre estuvieron presentes y hacia el final del estudio el ryegrass fue más abundante que el kikuyo. En el Anexo VII se muestra el resultado de la separación por hora de muestreo. Lo que las Figuras 2 y 17 indican es que las parcelas no fueron homogéneas ni en composición botánica ni en la cantidad de la materia seca presente. En el estudio se esperaba contar con un área más o menos uniforme de pradera en cuanto a la cantidad de forraje y especies vegetales. De hecho, se esperaba contar con sólo dos especies (ryegrass y trébol), pero la realidad fue muy diferente. Sin embargo, éstas son las condiciones que van a predominar en las áreas de pastoreo del país: superficies con una distribución irregular de la producción de forraje y con una gama de especies vegetales. Y es en estas condiciones en las cuales es necesario realizar estimaciones de consumo de MS y de selectividad. Son precisamente circunstancias como éstas que ponen a prueba cualquier metodología de estimación de consumo y selectividad.

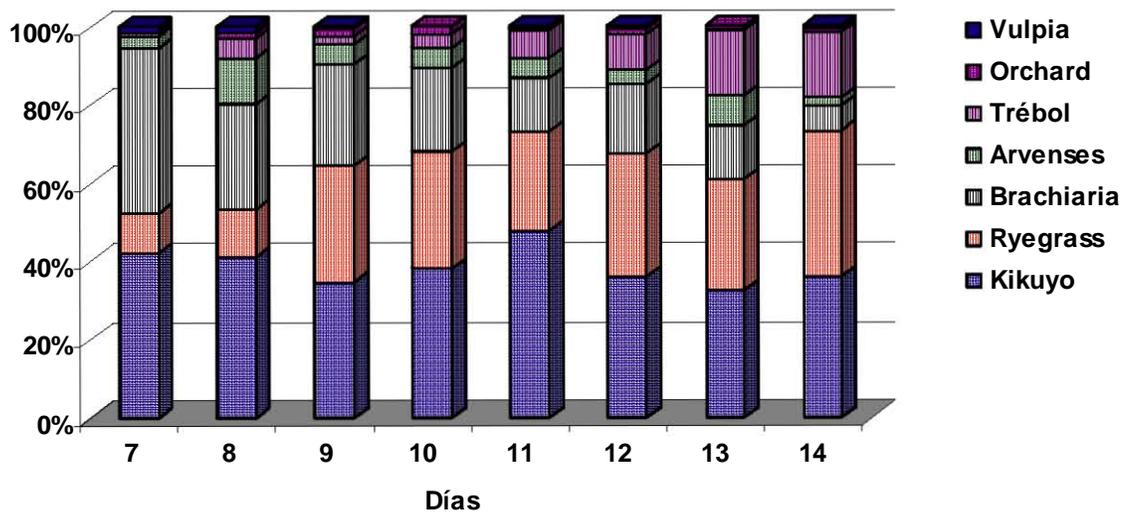


Figura 17. Promedio de la composición botánica de las ocho parcelas utilizadas durante la fase de experimentación.

7.4.2 Estimación manual de la selectividad

Aunque los cuatro corderos estudiados mostraron patrones de selectividad diferentes (Fig. 18), puede decirse que las especies preferidas fueron kikuyo, ryegrass y *Brachiaria*. A continuación se describirá lo que sucedió cada uno de los días experimentales.

La pradera del día 7 contenía alrededor de 42% de kikuyo y sólo 10% de ryegrass (Fig. 17); la composición de la dieta de los corderos en ese día fue de 38 a 53% de kikuyo, 19 a 33% de ryegrass, 19 a 35% de *Brachiaria*, 2 a 6% de arvenses y muy poco orchard (Fig. 18). En el día 8, la distribución fue similar, aunque dos animales (113 y 77) aumentaron su consumo de ryegrass y dos, de arvenses (113 y 111). Sin embargo, a pesar de que en la parcela hubo presencia de trébol (Fig. 17), no se obtuvo evidencia de que los corderos lo consumieran.

En el día 9 hubo más ryegrass en la parcela (Fig. 17) y todos los corderos, excepto uno (77), aumentaron el consumo de esta gramínea (Fig. 18). En ese día dos de los corderos comenzaron a comer trébol (111 y 77), un cordero no consumió *Brachiaria* (113) y dos no consumieron arvenses (111 y 77) (Fig. 18).

En el día 10, el consumo fue más variado en todos los corderos, apareciendo el consumo de orchard en dos corderos (111 y 87). Algo similar sucedió el día 11 y todos los corderos incrementaron su consumo de trébol, cuya presencia fue aumentando en la pradera (Fig. 17).

El día 12 el consumo también fue variado, aunque un cordero no consumió ni trébol ni orchard (111). La selección de forraje de los días 13 y 14 fue muy parecida entre ellos para cada cordero.

La Fig. 19 muestra el promedio de la selectividad de los corderos durante los días 7 a 14 experimentales. Puede verse que a lo largo de los días la selectividad determinada manualmente fue muy parecida. Es interesante observar que el animal 77 prefirió ligeramente las arvenses al trébol y prácticamente no consumió orchard. En el Anexo VII se muestra la información por hora de muestreo.

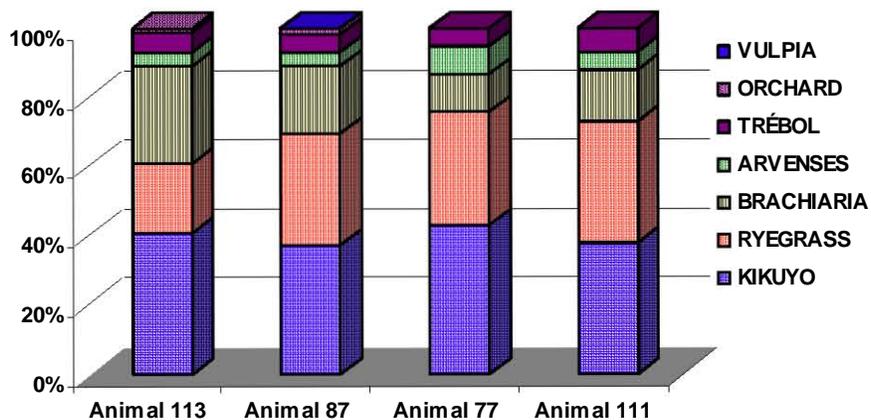


Figura 19. Selectividad promedio de los 4 corderos muestreados durante los días 7 a 14 de la fase de experimental.

La selectividad depende de la especie animal, de la disponibilidad de las plantas, del estado de madurez del forraje y de las condiciones climáticas, entre otros factores (Forbes, 1995). A medida que los pastizales son más heterogéneos, en cuanto a la calidad y cantidad del forraje disponible, las oportunidades para un pastoreo selectivo se

maximizan y, por lo tanto, la caracterización de la dieta de los animales en pastoreo se complica (Guitierrez, 1991; Van Soest, 1982).

La aceptación de las diferentes especies forrajeras se debe, en parte, a su sabor, olor, textura (palatabilidad). El sentido de la vista también interviene; por ejemplo, el brillo que emite el ryegrass es una característica que está vinculada a la concentración de nitrógeno y de carbohidratos solubles, lo cual es captado por los ovinos, ayudándolos a distinguir al ryegrass de entre otras especies forrajeras (Arnold, 1966; Roger, 1990). La experiencia es otro rubro de gran importancia. En sus estudios, Arnold y Maller, (1977), Malecheck y Provenza (1981) y Provenza y Malecheck (1986), Provenza y Balph (1990) y Provenza *et al.*, (2003) han encontrado que los animales pequeños imitan la conducta alimenticia de su progenitora, logrando de esta manera evitar el consumo de plantas dañinas y obtener alimento que les agrada y les proporcione los nutrientes necesarios para su organismo. De esta manera, los animales comienzan a seleccionar su alimento y a cambiar su dieta, dependiendo de su estado fisiológico y la época del año, aprovechando el alimento existente en un tiempo y lugar determinado. Estos autores mencionan que los animales que pastorean con sus madres tienen una mejor condición corporal, lo que ayuda a que soporten mejor las variaciones en la dieta. Debido a lo anterior, se tuvo la precaución de enseñarles a los corderos en este experimento a pastorear, pues se les había criado en estabulación. Además, pastorearon con el resto de los animales del rebaño para que aprendieran de ellos. Se sabe que la presencia de animales adultos o con mayor experiencia ayuda a que los animales jóvenes realicen un mejor trabajo de selectividad.

7.5 HECES

7.5.1 Concentración de MS, cenizas, MO, PC y FDN

La Fig. 20 muestra la concentración de MS promedio de las heces de los corderos durante la fase experimental (días 7 a 14). La concentración osciló entre 19.9 y 22.9%, encontrándose el mayor porcentaje el día 11. Si se comparan las Fig. 4 y 20 puede observarse, partiendo del día 8, que al aumentar la concentración de la MS en el forraje, aumentaba la concentración de MS en las heces y viceversa.

Las Fig. 20 y 21 muestran la concentración promedio, respectivamente, de cenizas y MO en las heces de los corderos. El porcentaje de cenizas varió muy poco (3.8 a 4.2%) y el perfil de MO fecal fue muy similar al de MS fecal (Fig. 22)

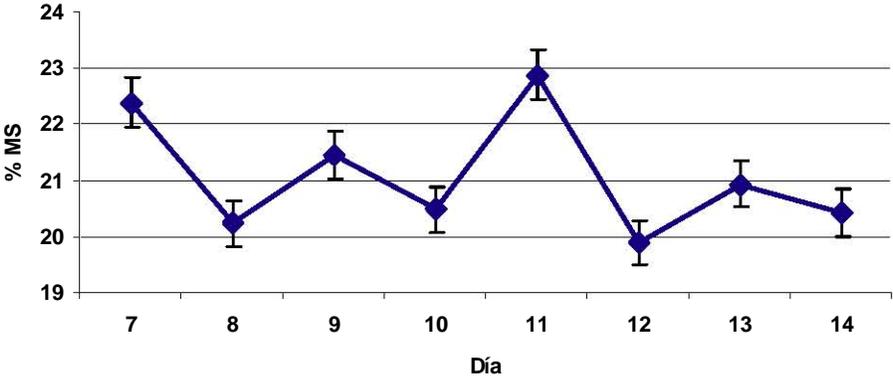


Figura 20. Concentración de materia seca (MS) promedio en las heces de los corderos durante la fase experimento.

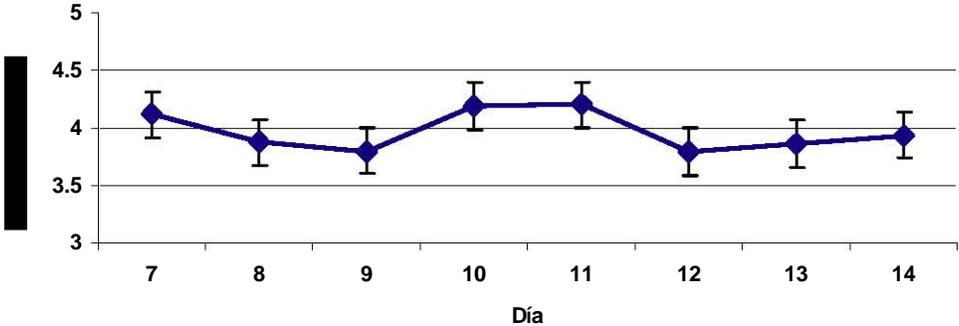


Figura 21. Concentración promedio de cenizas en las heces de los corderos durante la fase experimental.

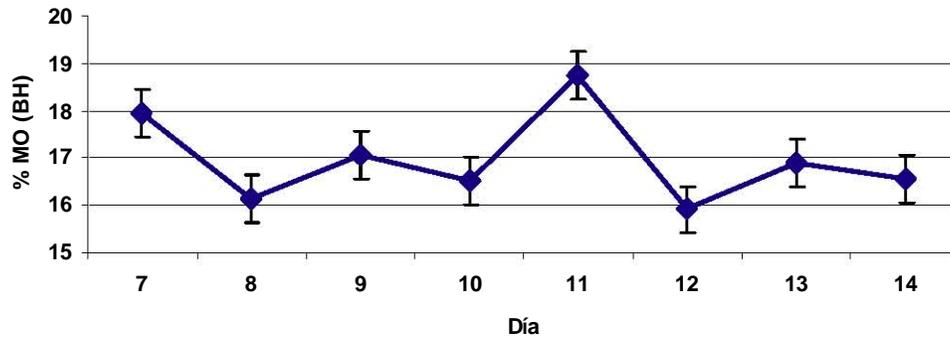


Figura 22. Concentración promedio de la materia orgánica (MO) de las heces de los corderos durante la fase de experimental.

La Fig. 23 muestra la concentración promedio en las heces de PC y FDN. A diferencia de lo que sucedió en el forraje (Fig. 7 y 8), la concentración de estos nutrientes en las heces fue muy estable durante la fase experimental. El promedio de PC fue de $15.6 \pm 3.2\%$ y el de FDN, $44.9 \pm 15.5\%$.

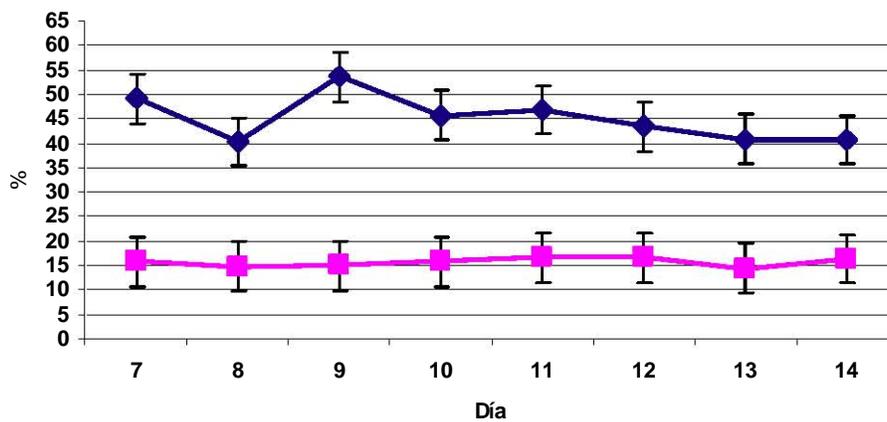


Figura 23. Concentración de proteína cruda (■) y fibra detergente neutro (◆) promedio en las heces de los corderos durante el experimento (base seca).

7.5.2 Concentración de marcadores externos: Cr, C₃₆ y C₃₂

Las figuras 24, 25 y 26 muestran la concentración de los marcadores fecales Cr y C₃₆ y del marcador de consumo C₃₂ (Anexo VIII) en los doce corderos experimentales. En general, puede observarse que la estabilidad se alcanza antes con los n-alcenos C₃₆ y C₃₂ (a partir de los días 3 y 4 post-dosificación) que con el cromo (a partir del día 7 post-dosificación). Esto tiene una repercusión práctica, pues si con los n-alcenos la estabilización se alcanza antes, entonces se puede acortar el periodo de mediciones experimentales y, quizás, disminuir el costo. Los tiempos de estabilización aquí encontrados son similares a los consignados en la literatura (Burns, 1994; Mayes *et al.*, 1986; Dove y Mayes, 1991).

En algunos animales, como el 113, la concentración de Cr fue sumamente estable a partir del día 4 post-dosificación, mientras que en otros, como el 189, la concentración tuvo fluctuaciones.

7.5.3 Perfil de n-alcenos en las heces

En el Cuadro 4 se muestra el perfil promedio de los n-alcenos impares encontrados en las heces de los animales en experimentación, observándose que la mayor concentración fue la de los n-alcenos C₂₉ (395 mg/kg MS), C₃₁ (632 mg/kg MS) y C₃₃ (471 mg/kg MS). Estos valores dependen de la concentración de n-alcenos en el forraje consumido y, por lo tanto, no es posible establecer una comparación con la información citada en la literatura.

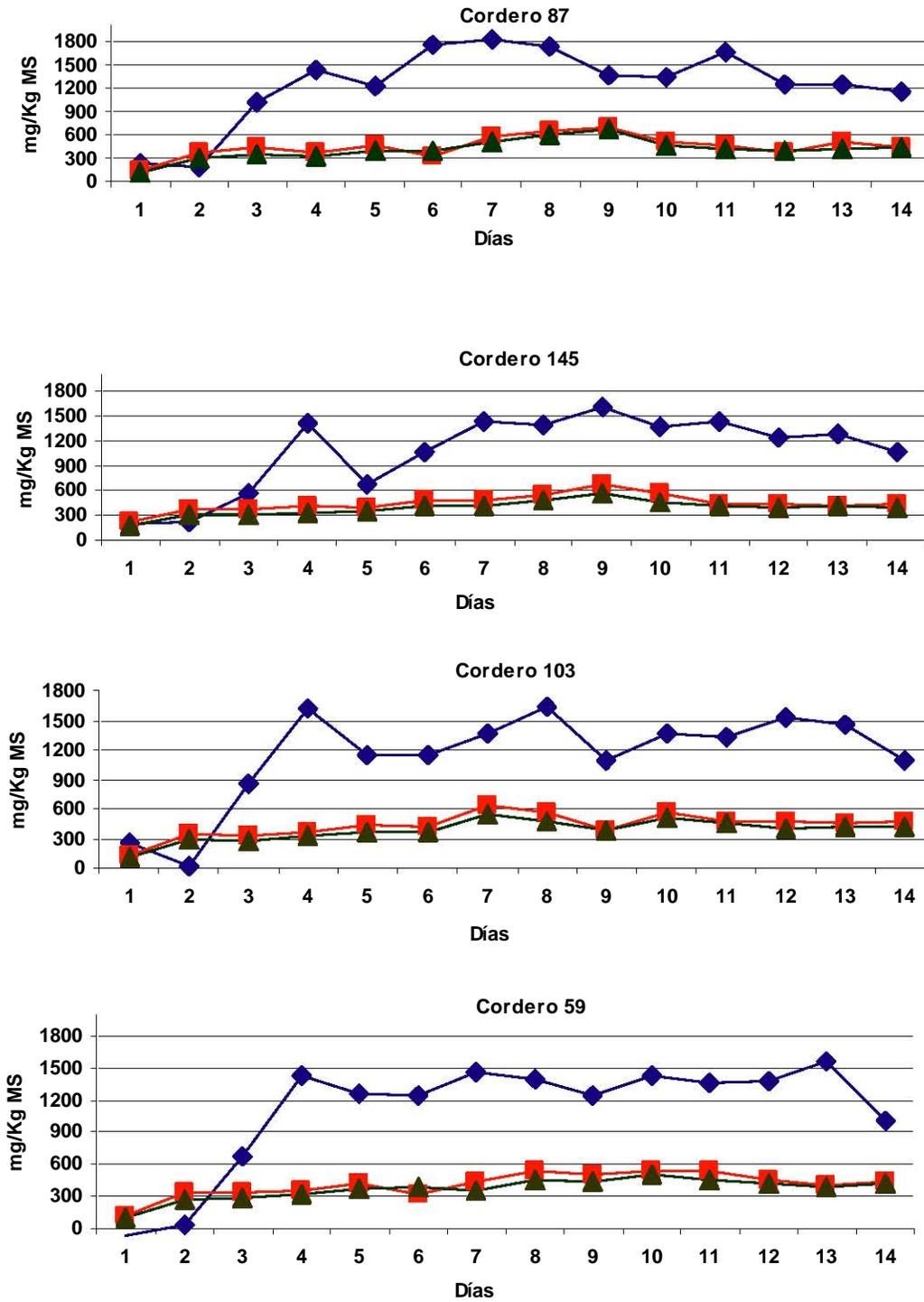


Figura 24. Concentración de los marcadores fecales Cr (◆) y C₃₆ (▲) y del marcador de consumo C₃₂ (■) en cuatro corderos experimentales.

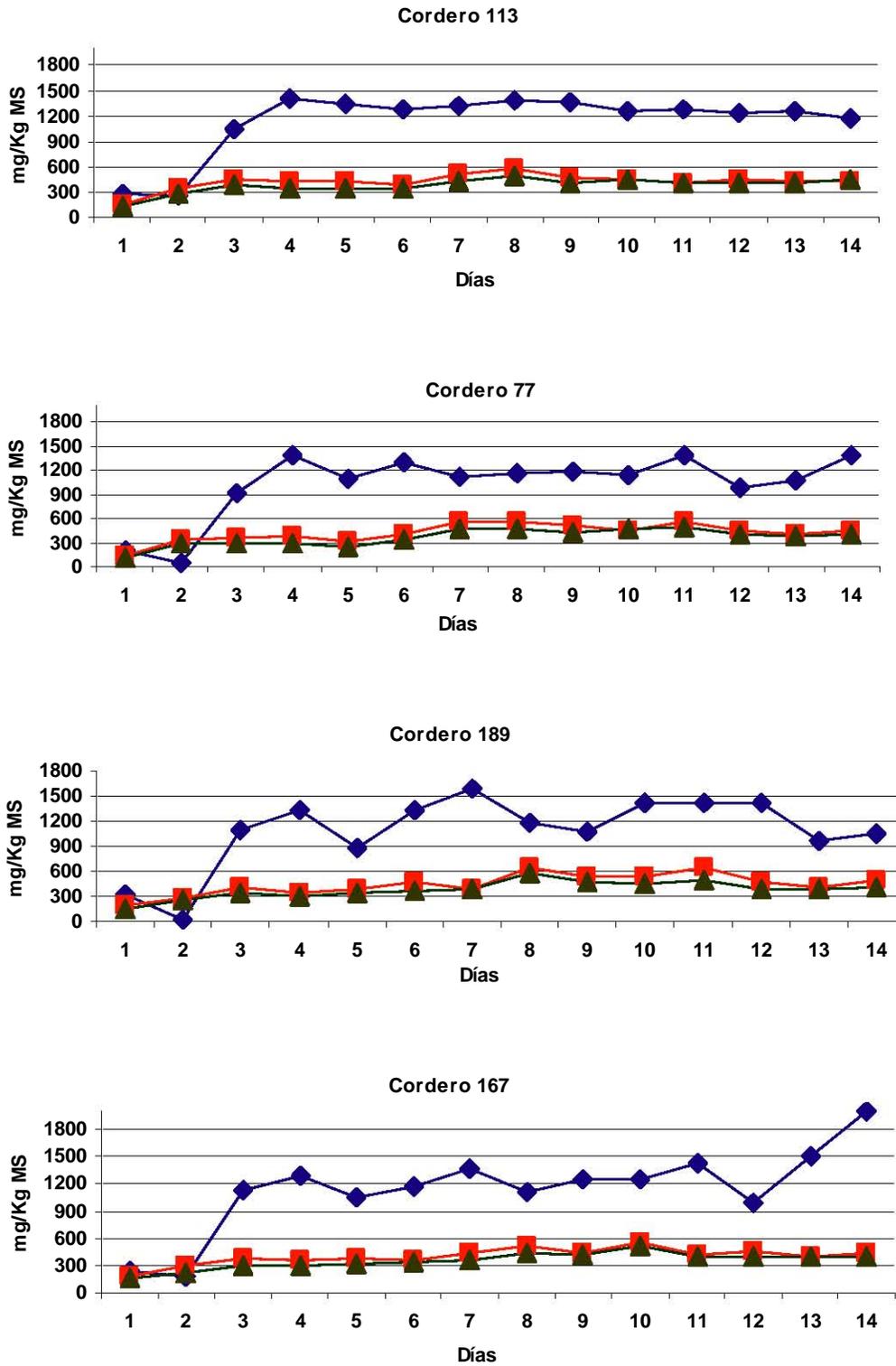


Figura 25. Concentración de los marcadores fecales Cr (♦) y C₃₆ (▲) y del marcador de consumo C₃₂ (■) en cuatro corderos experimentales.

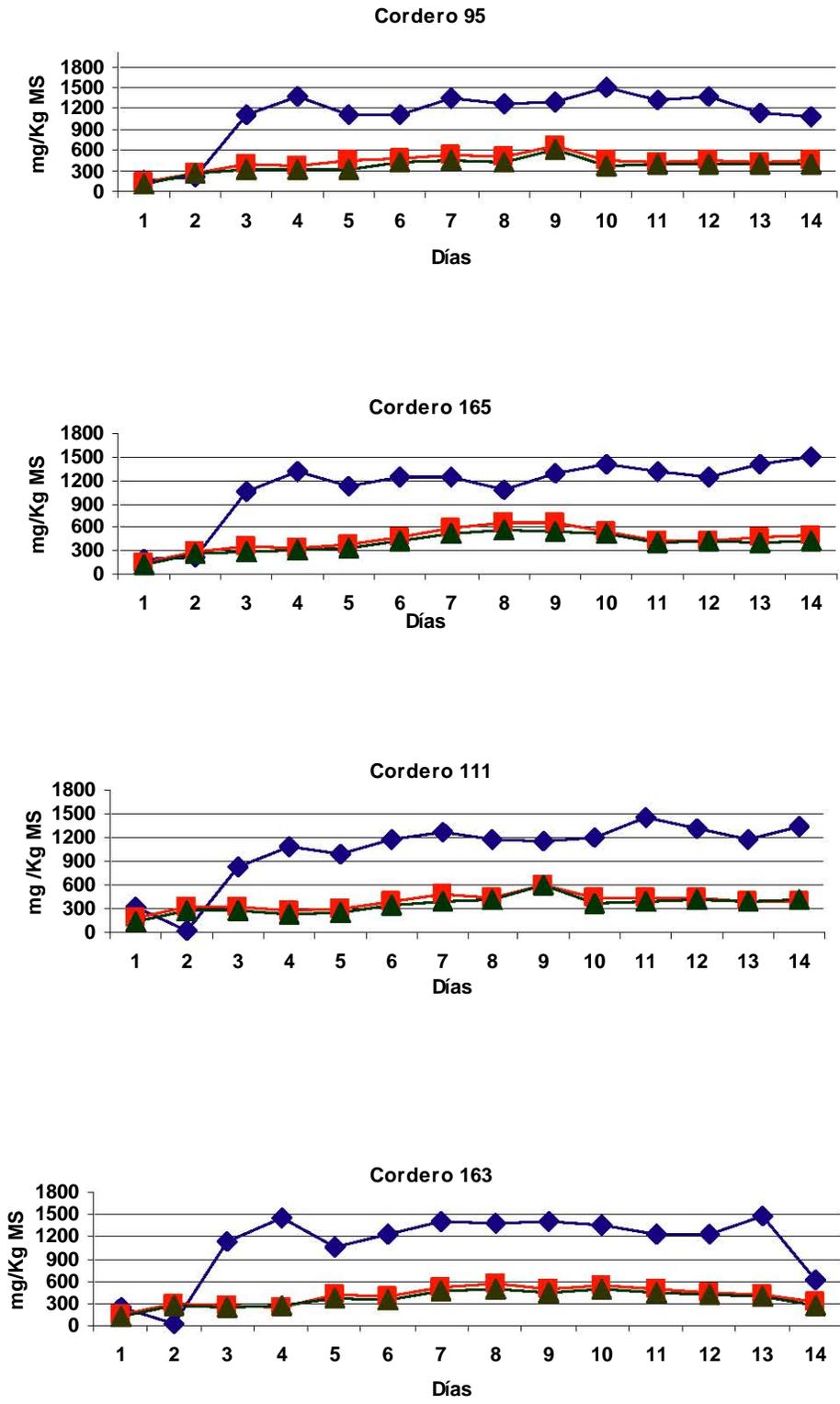


Figura 26. Concentración de los marcadores fecales Cr (◆) y C₃₆ (▲) y del marcador de consumo C₃₂ (■) en cuatro corderos experimentales.

Cuadro 4. Promedio del perfil de n-alcanos impares en las heces de los doce corderos en la fase experimental (días 7-14) (mg/Kg MS).

Cordero	C₂₅	C₂₇	C₂₉	C₃₁	C₃₃	C₃₅
95	91	189	439	651	462	207
87	104	165	354	576	481	250
189	91	179	431	642	432	199
145	77	153	401	653	467	216
113	72	147	389	643	486	238
111	86	173	406	645	485	241
77	71	148	410	731	560	254
165	77	148	357	571	426	205
59	90	169	374	581	420	206
103	83	160	390	630	469	226
163	81	160	395	637	468	223
167	92	184	396	627	491	258
Promedio	85	165	395	632	471	227
D.E	9.5	14.5	25.6	43.0	37.1	20.7

7.6 CÁLCULOS

7.6.1 Producción fecal por animal / día

La producción fecal se calculó por animal a partir de la concentración de Cr y del n-alcano C₃₆ en las heces. Las figuras 27, 28 y 29 muestran los resultados de estos cálculos en los doce corderos y en el Anexo IX se encuentran los datos numéricos.

La producción fecal promedio calculada con Cr fue de 270.2 g MS/d entre los días 7-14; el rango fue de 104.2 - 445.3 g MS/d. Para el C₃₆ la media fue de 278.4 g MS/d, con un rango de 178.5 - 442.3 g MS/d. Aunque estas cifras y lo que muestran las figuras 27 a 29 parecieran indicar que los dos métodos dieron resultados similares, el análisis de regresión presenta otro panorama. La Fig. 30 muestra la regresión entre los dos métodos cuya R² fue de 0.50. Es decir, no hubo una buena concordancia entre los dos métodos.

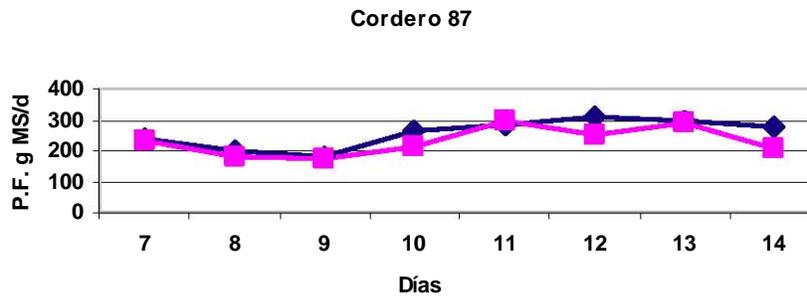
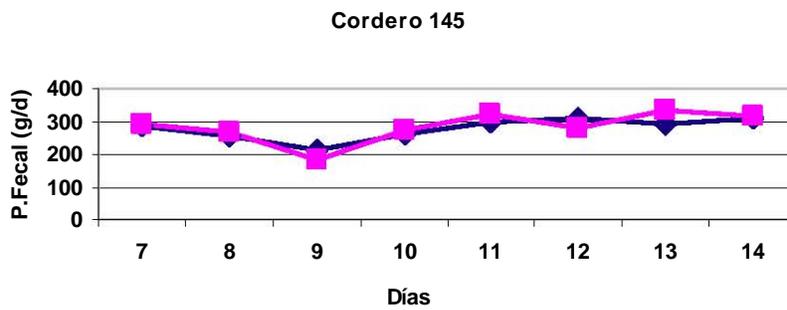
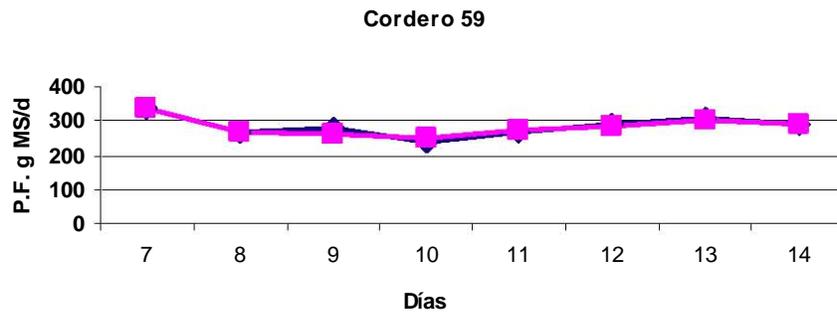
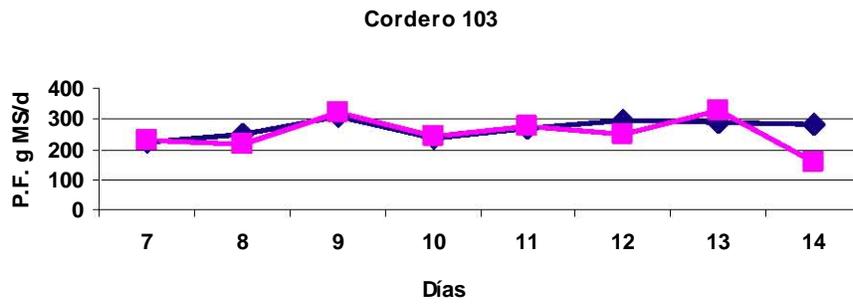


Figura 27. Producción fecal (P.F.) con dos diferentes marcadores (♦) C₃₆ y (■) Cr₂O₃ (MS= materia seca).

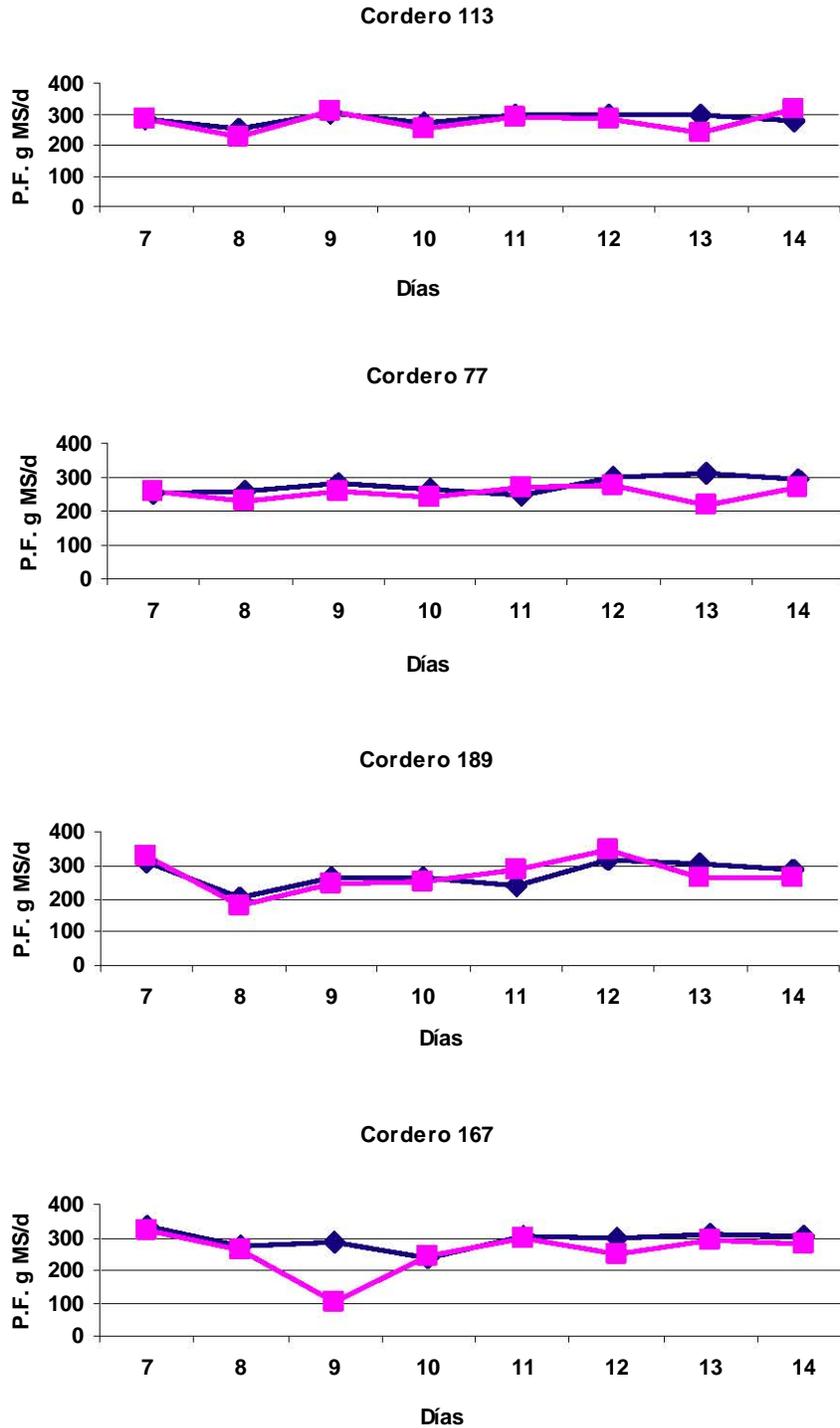


Figura 28. Producción fecal (P.F.) con dos diferentes marcadores (♦) C₃₆ y (▪) Cr₂O₃ (MS= materia seca).

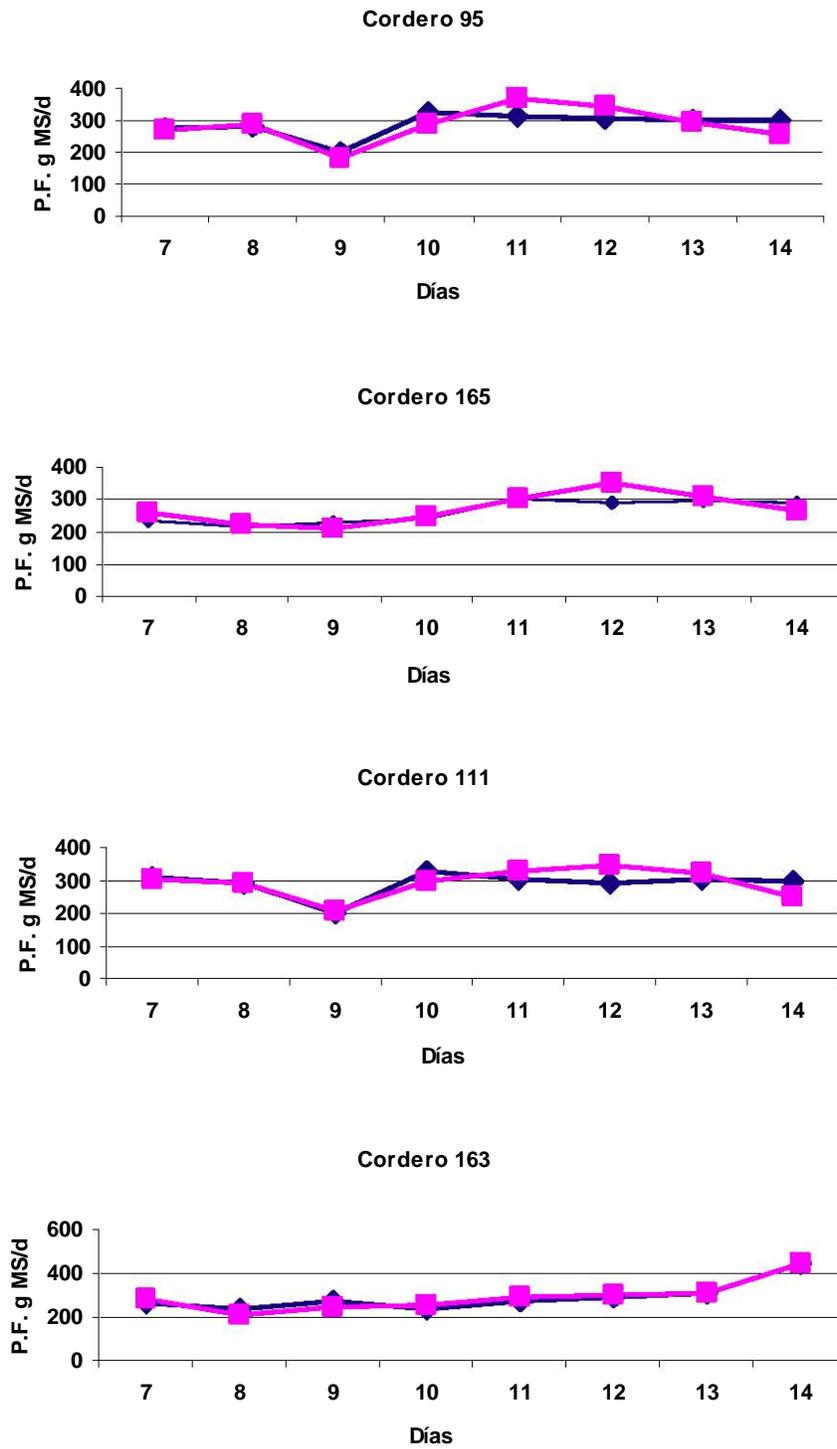


Figura 29. Producción fecal (P.F.) con dos diferentes marcadores (♦) C₃₆ y (▪) Cr₂O₃ (MS= materia seca).

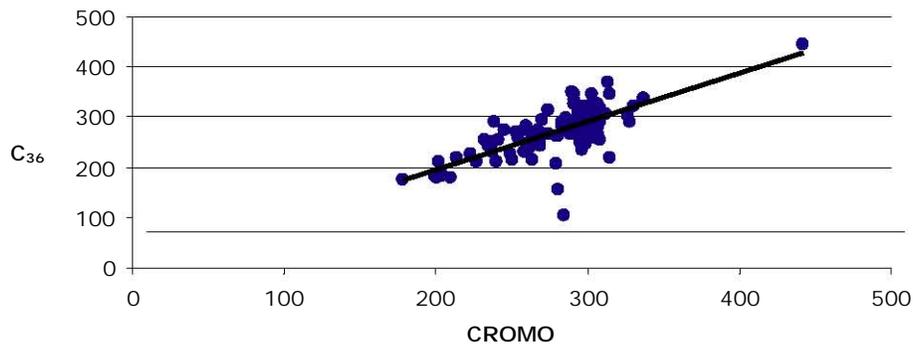


Figura 30. Regresión entre la predicción de producción fecal (g MS/d) con cromo y con el n-alcano C₃₆ (MS= Materia Seca) $Y= 0.9704x$ $R^2 =0.5029$

7.6.2 Consumo voluntario de MS

El cuadro 5 muestra las estimaciones de consumo de MS obtenidas con los tres métodos: la relación C₃₁:C₃₂, la relación C₃₃:C₃₂ y mediante la técnica de DIVMS / Cr₂O₃. En la Fig. 28 se muestra el consumo estimado de cuatro corderos, comparando la relación C₃₁:C₃₂ con la técnica DIVMS / Cr₂O₃.

El consumo promedio de MS de los 12 corderos estimados con la relación C₃₁:C₃₂ fue de 0.94 Kg/día, con un rango de 0.48 a 1.46 Kg MS/día. La técnica de DIVMS / Cr₂O₃ arrojó una estimación promedio de 0.99 Kg/día, con un rango de 0.38 a 2.13. Aunque los promedios son muy parecidos, los rangos presentan una mayor variabilidad. Igualmente, en algunos animales, como el cordero 77 (Fig.31), las estimaciones con ambos métodos fueron similares, pero en otros (cordero 111, Fig. 31) los resultados indicaron que llegaron a ser opuestos. Esto puede explicarse por qué el análisis de regresión (Fig. 32) señaló una R² de 0.51, lo que indica que la concordancia entre ambos métodos no fue muy buena.

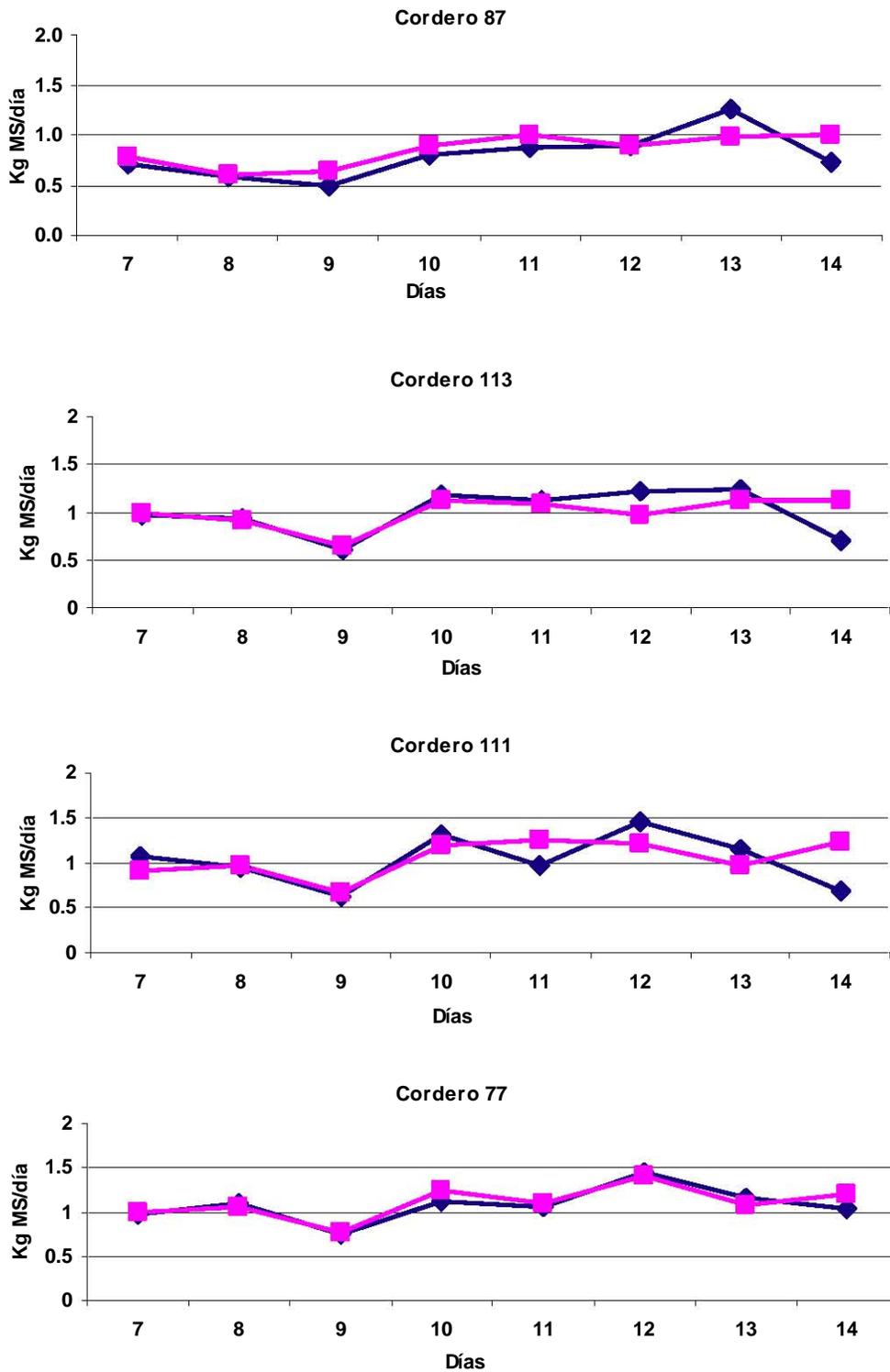


Figura 31. Estimación del consumo de materia seca (Kg MS/día) mediante la relación $C_{31}:C_{32}$ (◆) y la técnica de digestibilidad in vitro de la materia seca/ Cr_2O_3 (DIVMS/ Cr_2O_3) (■)

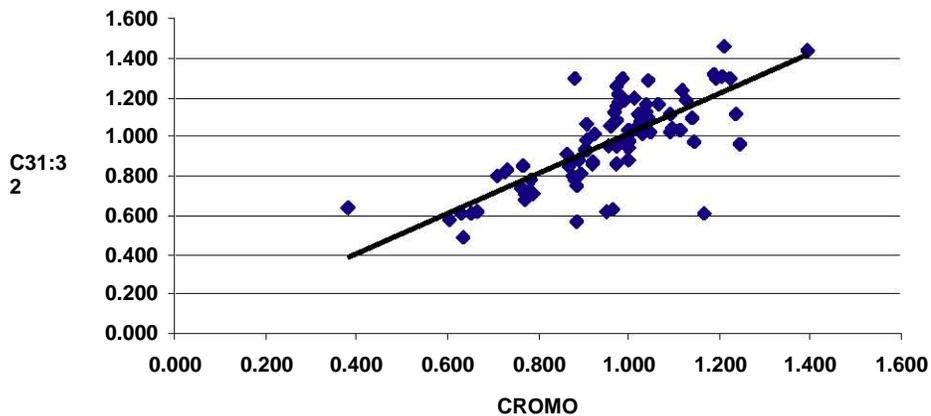


Figura 32. Regresión de la estimación del consumo de materia seca (Kg MS/día) con la relación $C_{31}:C_{32}$ y la técnica de $Cr_2O_3/DIVMS$ $Y = 0.8286x$ $R^2 = 0.5132$

El consumo promedio estimado $C_{33}:C_{32}$ con la relación fue de 0.66 Kg MS/día, con un rango de 0.40 a 1.13 Kg MS/día. La regresión entre los consumos estimados por las relaciones $C_{31}:C_{32}$ y $C_{33}:C_{32}$ arrojó una R^2 de 0.41, mientras que la R^2 para la regresión entre los consumos estimados por la relación $C_{33}:C_{32}$ y $Cr_2O_3/DIVMS$ fue de 0.32. Estos coeficientes de determinación son aún más bajos, por lo que se concluye en que este estudio funcionó mejor la relación $C_{31}:C_{32}$ que la relación $C_{33}:C_{32}$ para la estimación del consumo.

La literatura indica que, en general, existe una mayor precisión con la estimación del consumo con la técnica de n-alcenos que con la $Cr_2O_3/DIVMS$ atribuible en parte a que el Cr_2O_3 se mueve en el aparato digestivo de manera independiente del alimento, mientras que los n-alcenos, por ser parte constitutiva del alimento, se mueven con éste. Otras razones para preferir a la técnica de n-alcenos sobre la de $Cr_2O_3/DIVMS$, es que la primera permite determinar el consumo de forraje en animales que consumen granos y que se puede obtener el consumo de MS de manera individual para cada animal (Dove y Mayes, 2003).

La literatura también señala que, en general, la relación $C_{33}:C_{32}$ funciona mejor que la relación $C_{31}:C_{32}$ para la estimación del consumo de MS (Vulich *et al.*, 1991,1995). Sin embargo, algunos autores han encontrado mejores resultados con la relación $C_{31}:C_{32}$ (Piasentier *et al.*, 1995), como ha sido el caso de este estudio. Quizás esto pudo haberse debido a que la concentración de C_{31} fue mayor y más estable que la de C_{33} durante el estudio y a que su recuperación en heces fue mejor (ver más adelante). A una conclusión similar llegaron Ohajuruka y Palmisquist (1991).

Existen dos momentos durante la fase experimental cuando el consumo sufrió un cambio notorio. Uno fue el día 9, en el cual se observó una disminución en el consumo de 11 de 12 animales; otro día fue el 12, cuando se registró un aumento en el consumo de 9 corderos. Puede ser que esto se haya debido a la disponibilidad de forraje. En el cuadro 2 puede observarse que dentro de la fase experimental (días 7 a 14), la menor disponibilidad del forraje se presentó precisamente el día 9 y en el día (o parcela) 12 se registró la mayor disponibilidad. El tiempo que los animales tuvieron para pastorear no influyó en la cantidad de MS consumida, pues el día 9 (menor disponibilidad de forraje) los animales estuvieron 8 horas en la parcela, mientras que el día 12 (mayor disponibilidad del forraje) sólo estuvieron 5 horas. Igualmente, podría pensarse en un efecto de madurez del forraje, pues el día 9 la concentración de FDN fue de 68.2% (una de los más elevados del estudio), mientras que en el día 12 la concentración fue de 56.9%. Es bien sabido que la concentración fibra afecta la digestibilidad del forraje y, por ende, el consumo (Van Soest, 1982).

Estos cambios en el consumo se detectaron mejor con la técnica de n-alcanos $C_{31}:C_{32}$ que con la técnica de $Cr_2O_3/DIVMS$. Las gráficas para los corderos 95 y 189 (Fig. 28) ejemplifican bien esta observación. Ésta puede ser otra ventaja de la técnica de n-alcanos sobre la de $Cr_2O_3/DIVMS$. La metodología para la estimación del consumo de MS, las situaciones de pastoreo, con el uso de marcadores generalmente trata de establecer condiciones lo más homogéneas posibles en cuanto a tiempo de pastoreo y forraje, pues de esta manera, una vez estabilizado el marcador en el aparato digestivo del animal, podrá obtenerse una estimación del consumo relativamente confiable en cualquier momento durante el experimento. La idea cuando se inició este estudio era tener un área uniforme de pastoreo, con dos o tres variedades de forraje. La realidad fue completamente diferente, pues la superficie de pastoreo a la que se tuvo acceso fue muy

heterogénea en cuanto a terreno y variedades de plantas y el establecimiento de parcelas experimentales no pudo realizarse de la misma manera todos los días. Esto significa que el consumo de MS por parte de los corderos no pudo haber sido el mismo día con día y la técnica de n-alcenos hizo un mejor trabajo para detectar esta variación, mostrando diferencias en la estimación de consumo.

Finalmente, queda por analizar la información sobre el consumo de MS. En primer lugar, las estimaciones en el Cuadro 4 son mucho más realistas que las estimaciones promedio que aparecen en el Cuadro 2, lo que refuerza, una vez más, una noción ampliamente aceptada: los cálculos de consumo a través de la medición del forraje residual en una pradera son muy inexactos. Y no sólo eso, sino que no se toma en cuenta la variación individual y la que ocurre día a día, como quedó ejemplificado en la Fig. 28 y en el Cuadro 4. El consumo promedio de los corderos osciló entre el 2 y el 2.4% de su peso vivo promedio, aunque en determinados momentos alcanzó el 3% (por ejemplo, el cordero 111, con un peso promedio de 46.2 Kg, llegó a consumir 1.46 Kg MS, lo cual representó el 3.2% de su peso). El NRC de ovinos (1987) señala que corderos de 40 y 45 Kg en finalización, que ganan 250 g/d, consumen 1.6 a 1.7 MS/día, respectivamente, lo cual representa entre 3.5 y 3.7% del peso.

En este estudio, el cordero que más ganó peso fue el 113: 4 kg en 30 días o 133 g/d. Hay que considerar que estos animales pastorearan y que quizás la expresión completa de su capacidad de consumo no logró manifestarse debido a las condiciones de experimentación (insuficiente disponibilidad de forraje).

7.6.3 Digestibilidad de la MS

El cuadro 6 muestra los cálculos de digestibilidad de la MS obtenidos de tres formas diferentes: cálculo de consumo de MS a través de la relación $C_{31}:C_{32}$ y de producción fecal con C_{36} u Cr_2O_3 y cálculo de digestibilidad directamente con el n-alceno C_{31} como marcador interno, y los compara con el dato de DIVMS (Anexo X). En general, hay una buena correspondencia entre los cálculos obtenidos con los n-alcenos y la DIVMS, excepto en los días 9 y 12, en los que se vio una disminución y un aumento en la digestibilidad, respectivamente, en comparación con el dato correspondiente de la DIVMS.

Esto pudo haberse debido a las características del forraje, pues como ya se mencionó, la concentración de FDN fue alta el día 9 y menor el día 12. Además, la concentración de PC el día 9 fue de 13.3% y el día 12, de 16.9%, lo que pudo haber influido en el proceso de digestibilidad. Se sabe que al haber un aumento en la digestibilidad del forraje aumenta el consumo y viceversa (McDonald, 1988), por lo que la información de consumo (Cuadro 5) y de digestibilidad cuadra a la perfección. La técnica de DIVMS no es capaz de detectar estas diferencias porque no involucra el componente animal. Por lo tanto, en el día 9 hubo una sobre-estimación de la digestibilidad y en el día 12, una sub-estimación. La literatura marca que la digestibilidad del forraje con 15 a 20% de P.C y 58 a 72% de FDN oscila entre 60 y 75% (McDonald, 1988).

Cuadro 6. Digestibilidad promedio (media de 12 corderos) del forraje presente en las parcelas durante los días 7 a 14 del experimento (%).

DÍA	$C_{31}:C_{32}/C_{36}$	$C_{31}:C_{32}/ Cr$	C_{31}	DIVMS
7	69.2	68.8	68.9	70.6
8	70.5	71.9	71.3	70.3
9	61.3	65.2	64.5	72.7
10	75.7	76.6	75.1	75.8
11	71.7	69.8	68.8	70.4
12	74.6	74.8	75.0	71.5
13	70.5	71.1	69.2	70.0
14	58.7	62.7	59.8	*
PROMEDIO	70.5	71.2	69.1	71.6
D.E	4.6	3.8	5.1	2.1

* Este dato no se presenta por no considerarse confiable.

D.E.= desviación estándar

$C_{31}:C_{32}/C_{36}$: Consumo calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$; producción fecal calculado con el n-alcano C_{36} .

$C_{31}:C_{32}/ Cr$: calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$; producción fecal calculado con el Cr_2O_3 .

C_{31} : Digestibilidad calculada directamente con el n-alcano C_{31} como marcador interno.

DIVMS: Digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

En el Cuadro 7 se muestran las correlaciones de Pearson entre los métodos de n-alcanos para el cálculo de digestibilidad y en las figuras 32 a 34 aparecen las regresiones. Puede verse que las correlaciones entre los tres métodos fueron altas y significativas, pero la mejor regresión fue para los métodos de $C_{31}:C_{32}/C_{36}$ y C_{31} . Esto significa que es posible calcular la digestibilidad del forraje en pastoreo sin necesidad de pasar por la estimación de producción fecal, utilizando solamente a n-alcanos como marcadores internos y externos (C_{32} dosificado). Esto ahorraría mucho tiempo, mano de obra y dinero.

Cuadro 7. Correlación de Pearson entre tres métodos para calcular la digestibilidad del forraje durante el experimento.

	$C_{31}:C_{32}/Cr$	C_{31}
$C_{31}:C_{32}/C_{36}$	0.83	0.93
P	0.000	0.000
n	96	96
$C_{31}:C_{32}/Cr$		0.79
P		0.000
n		96

$C_{31}:C_{32}/C_{36}$: Consumo calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$; producción fecal calculada con el n-alcano C_{36} .

$C_{31}:C_{32}/Cr$: Consumo calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$; producción fecal calculada con Cr_2O_3 .

C_{31} : Digestibilidad calculada directamente con el n-alcano C_{31} como marcador interno.

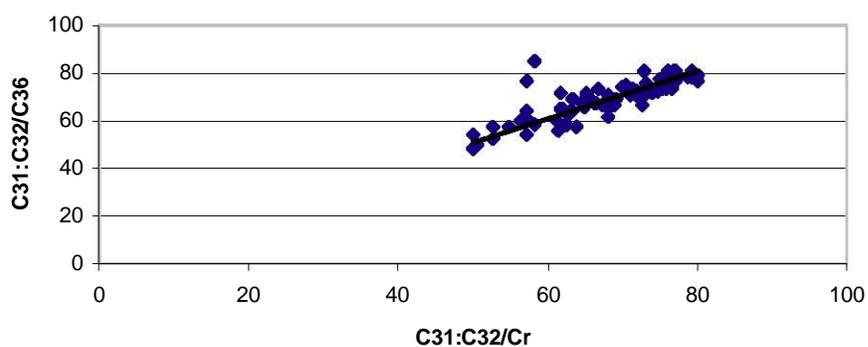


Figura 33. Regresión de la estimación de la digestibilidad de la materia seca con la relación $C_{31}:C_{32}/C_{36}$ con $C_{31}:C_{32}/Cr$. $Y = 10.397 + 0.838 X$ $R^2 = 0.72$

$C_{31}:C_{32}/C_{36}$: Consumo calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$; producción fecal calculado con el n-alcano C_{36} .

$C_{31}:C_{32}/Cr$: Consumo calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$; producción fecal calculada con Cr_2O_3 .

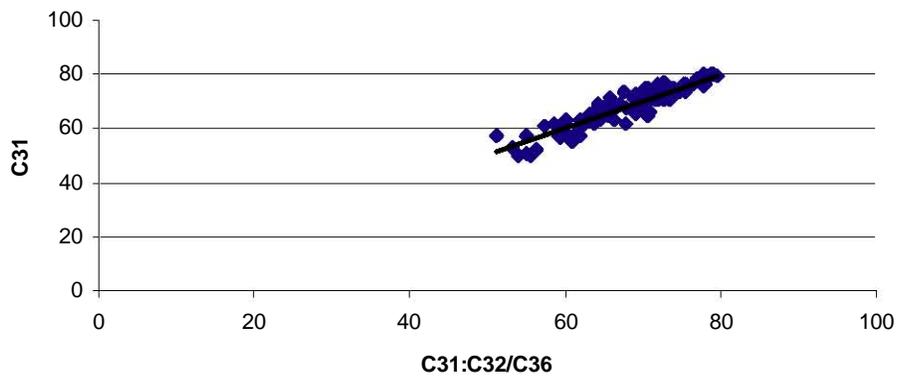


Figura 34. Regresión de la estimación de la digestibilidad de la materia seca con la relación $C_{31}:C_{32}/C_{36}$ con C_{31} . $Y = 8.528 + 0.875x$ $R^2 = 0.87$

$C_{31}:C_{32}/C_{36}$: Consumo calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$; producción fecal calculada con el n-alcano C_{36} .
 C_{31} : Digestibilidad calculada directamente con el n-alcano C_{31} como marcador interno

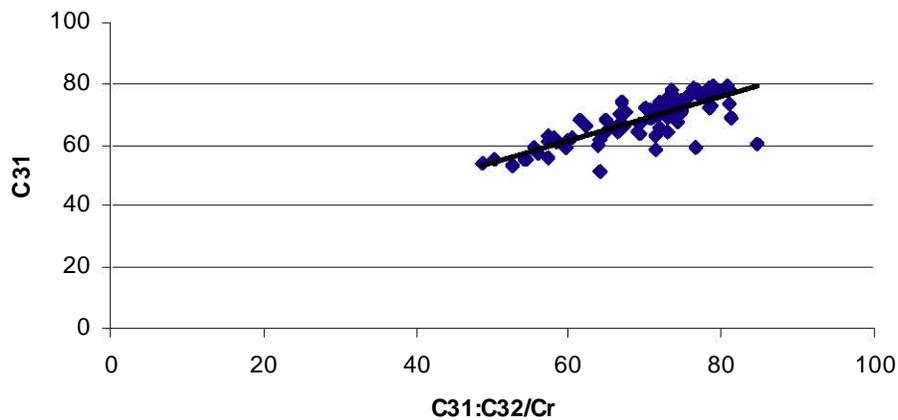


Figura 35. Regresión de la estimación de la digestibilidad de la materia seca con la relación $C_{31}:C_{32}/Cr$ con C_{31} $Y = 18.072 + 0.725x$ $R^2 = 0.63$

$C_{31}:C_{32}/Cr$: Consumo calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$; producción fecal calculada con el Cr_2O_3 .
 C_{31} : Digestibilidad calculada directamente con el n-alcano C_{31} como marcador interno.

7.6.4 Análisis de selectividad por medio de la técnica de n-alcános

Para la estimación de la composición botánica se necesita tener una estimación de la recuperación fecal de los n-alcános involucrados en los cálculos. De preferencia esto debe hacerse con animales de los cuales se tenga información precisa de consumo (por ejemplo, con el uso de jaulas metabólicas), pero en este caso no se contaba con datos confiables así obtenidos. Por lo tanto, se recurrió a echar mano de la información obtenida de los doce corderos del estudio. Con la estimación del consumo de MS (día 7 a 14) de cada animal (relación $C_{31}:C_{32}$, Cuadro 5) y con el perfil de n-alcános (día 7 a 14) promedio del forraje (Cuadro 3), se calculó cuánto fue el consumo promedio de cada n-alcáno. Con la información de producción fecal (día 7 a 14, C_{36}) de cada cordero (Anexo IX) y el perfil de n-alcános (día 7 a 14) de las heces de cada cordero (Cuadro 4), se calculó la excreción promedio de cada n-alcáno. Con estos dos datos, se estimó el porcentaje de recuperación de cada n-alcáno en las heces. El Cuadro 8 resume la información.

Cuadro 8. Porcentaje de recuperación fecal de n-alcános impares.

Dato	n-alcáno					
	C_{25}	C_{27}	C_{29}	C_{31}	C_{33}	C_{35}
Consumo promedio (MS) (mg/d)	24.4	45.3	128.6	193.3	164.0	73.8
Excreción promedio (MS) (mg/d)	78.7	154.2	384.4	647.1	473.1	198.1
Recuperación \pm D.E	87.7 \pm 0.6	98.0 \pm 0.05	89.5 \pm 0.03	98.3 \pm 0.05	87.6 \pm 0.05	84.5 \pm 0.02

D.E.= desviación estándar

Puede verse que la recuperación más elevada fue la de los n-alcános C_{27} y C_{31} (98%); C_{25} y C_{33} tuvieron recuperaciones similares (88%) y C_{35} tuvo la recuperación más baja (84%). La literatura que la recuperación de los diferentes n-alcános es la siguiente: C_{27} , 92; C_{29} , 91; C_{31} , 93; C_{33} , 88; C_{35} , 91 (Vulich, 1991).

Con la información del Cuadro 8 se procedió a estimar la composición botánica de la dieta de los cuatro corderos de los cuales se había echo una estimación manual (77, 87,

111 y 113). La estimación matemática produjo un cálculo de consumo de MS, que se muestra en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Consumo de materia seca (Kg/d) calculado con la relación $C_{31}:C_{32}$ (M1) y por el método matemático (MM) utilizado para estimar la selectividad.

Día	Cordero 77		Cordero 87		Cordero 111		Cordero 113	
	M1	MM	M1	MM	M1	MM	M1	MM
8	1.09	1.56	0.58	0.71	0.95	1.51	0.93	1.35
9	0.74	1.47	0.48	0.73	0.62	1.22	0.61	1.06
10	1.11	1.48	0.79	1.04	1.31	1.84	1.18	1.49
11	1.04	1.14	0.88	1.27	0.96	1.43	1.11	1.57
12	1.44	1.36	0.88	1.06	1.46	1.95	1.22	1.72
13	1.16	1.39	1.26	1.62	1.16	1.66	1.24	1.63
14	1.02	1.43	0.73	0.88	0.69	0.91	0.71	1.22

Como es aparente, hay una diferencia marcada entre los dos cálculos. ¿Cuál método se acerca más al consumo real de MS? Esta pregunta es muy difícil de contestar. Sin embargo, si se considera que los consumos calculados a partir de la relación $C_{31}:C_{32}$ y por el método de $Cr_2O_3/DIVMS$, aunque no exactamente similares, sí fueron parecidos, y tomando en cuenta que, en general, la literatura indica lo mismo, la conclusión sería que los consumos estimados con la relación $C_{31}:C_{32}$ son los más confiables.

El método matemático para la estimación de la composición botánica de la dieta produce resultados en cantidades totales (g o Kg) de MS de cada especie vegetal. Sin embargo, para comparar esos resultados con el método manual, la información se transformó a porcentaje, siendo el 100% del consumo que se presenta en el Cuadro 9.

Otra situación que se consideró en todos estos cálculos fue el hecho de que los corderos no estaban pastoreando en una condición de “estabilidad”, es decir, día con día fueron cambiando las condiciones de pastoreo. Por esa razón se pensó que era más apropiado utilizar la información del perfil de n-alcenos del forraje en la parcela (o día) 7 y el perfil de n-alcenos de las heces del día 8 para estimar la selectividad del día 8; de igual manera, se usó la información del perfil de n-alcenos del forraje de la parcela (o día) 8 junto con el perfil de n-alcenos de las heces del día 9, y así sucesivamente. De ahí que en el Cuadro 9 no aparezca la información del día 7. Esto se hizo pensando que el perfil de n-alceno de

las heces de un día determinado iba a estar mejor relacionado con el perfil de n-alcanos del forraje del día anterior, debido al tiempo de permanencia del forraje en el rumen.

Los Cuadros 10 a 13 muestran la composición botánica de la dieta de los corderos estimada manual y matemáticamente. Lo primero que puede apreciarse es la coincidencia en la “no detección” de especies forrajeras. Por ejemplo, en el cordero 77 (Cuadro 10) no se detectó el consumo de vulpia en ningún día por ninguno de los dos métodos. En el cordero 87 (Cuadro 11) en 6 de los 7 días ninguno de los dos métodos detecto vulpia, pero en el día 8, ambos métodos detecta un consumo mínimo. En el cordero 111 (Cuadro 12) sólo en un día (8) se detecto consumo de vulpia por el método matemático, mientras que en el 113 (Cuadro 13) hubo mayor variación: el método matemático detectó un consumo de vulpia en dos días y el manual, en otros dos. Con el método matemático en ningún momento se detectó consumo de pasto orchard por parte de los corderos. Algo parecido sucedió con el consumo de trébol, aunque el método matemático detectó consumo de esta leguminosa por los cordero 87 (días 8, 13 y 14), 111 (día 11) y 113 (día12). (Cuadro 10, 12 y 13, respectivamente).

En general, los dos métodos coincidieron en la detección de los dos forrajes más consumidos, kikuyo y ryegrass, en esa orden la mayor parte de las veces. El método matemático detectó un mayor consumo de *Brachiaria mediana hitche* que el método manual; lo contrario sucedió con las arvenses. Sin embargo; los dos métodos indicaron que los corderos consumieron *Brachiaria mediana hitche* (todos los días, para el cordero 113; seis días para el cordero 111; cuadro días para el cordero 87 y tres días para el cordero 77).

Cuadro 10. Estimación manual (M) y matemática (perfil de n-alcanos) (A) de los forrajes seleccionados por el cordero #77 durante los días de experimentación (%).

Especies	D í a													
	8		9		10		11		12		13		14	
	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A
Kikuyo	35	67	50	58	43	42	39	60	41	57	37	84	56	72
Ryegrass	49	28	21	36	39	24	34	35	21	43	41	16	28	28
Arvenses	6	-	7	6	6	8	6	-	3	-	15	-	11	-
Brachiaria	10	5	19	-	7	26	3	5	18	-	7	-	5	-
Trébol			3	-	5	-	16	-	17	-				
Vulpia														
Orchard							2	-						

Cuadro 11. Estimación manual (M) y matemática (perfil de n-alcanos) (A) de los forrajes seleccionados por el cordero #87 durante los días de experimentación (%).

Especie	D í a													
	8		9		10		11		12		13		14	
	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A
Kikuyo	37	59	45	77	24	55	47	50	37	67	31	31	42	46
Rryegrass	18	4	17	22	66	31	31	14	28	20	37	41	24	27
Arvenses	8	-	6	-	-	-	8	-	9	13	-	-	5	-
Brachiaria	36	-	32	1	10	14	7	36	11	-	24	17	21	-
Trébol	-	33	-	-	-	-	4	-	11	-	3	11	8	27
Vulpia	1	4												
Orchard							3		4		5			

Cuadro 12. Estimación manual (M) y matemática (perfil de n-alcanos) (A) de los forrajes seleccionados por el cordero #111 durante los días de experimentación (%).

Especie	D í a													
	7		8		9		10		11		12		13	
	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A
Kikuyo	42	49	45	39	22	33	35	54	52	48	35	53	35	66
Ryegrass	32	17	29	18	58	35	41	20	31	18	30	12	31	32
Arvenses	6	-	11	-	-	7	8	-	3	-	9	-	15	-
Brachiaria	20	34	15	26	15	25	8	26	-	-	26	35	19	3
Trébol			-	-	5	-	-	-	14	34	-	-	-	-
Vulpia			-	17										
Orchard							8							

Cuadro 13. Estimación manual (M) y matemática (perfil de n-alcanos) (A) de los forrajes seleccionados por el cordero #113 durante los días de experimentación (%).

Especies	D í a													
	7		8		9		10		11		12		13	
	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A	M	A
Kikuyo	52	62	38	57	49	48	37	41	36	49	34	42	36	70
Ryegrass	21	28	25	30	46	25	25	23	29	21	25	25	31	12
Arvenses	25	-	29	-	-	-	22	-	15	8	27	-	23	-
Brachiaria	2	7	8	11	4	27	7	36	5	22	4	22	3	18
Trébol	-	-	-	-	1	-	9	-	11	-	8	11	7	-
Vulpia	-	3	-	2					4	-	2	-		
Orchard														

8. CONCLUSIONES

- Deben considerarse áreas de pastoreo más grandes para estudios de selectividad.
- Hubo diferencias marcadas entre especies vegetales en el perfil de n-alcanos: en el kikuyo predominó el C_{33} ; en el ryegrass, arvenses, vulpia y orchard predominó el C_{31} ; en la *Brachiaria* y el trébol predominó el C_{29} .
- El coeficiente de determinación de la comparación de la producción fecal realizada con C_{36} y Cr_2O_3 no fue alto; sin embargo, la información obtenida con los n-alcanos fue parecida a la de Cr_2O_3 , con la ventaja de que la estabilización del C_{36} fue mucho más rápida, lo cual permitiría disminuir el número de días en experimentación.
- El coeficiente de determinación de la comparación del consumo estimado utilizando la relación $C_{31}:C_{32}$ y el método de DIVMS/ Cr_2O_3 tampoco fue elevado, aunque numéricamente los resultados fueron parecidos.
- Los diferentes métodos de estimación de la digestibilidad ($C_{31}:C_{32}/C_{36}$, C_{31} , $C_{31}:C_{32}/Cr$ y DIVMS) dieron resultados muy similares. Los coeficientes de determinación oscilaron entre 0.63 y 0.87.
- El método matemático puede servir como una guía útil para tener una idea más precisa de las preferencias de los animales, pero hay que tomar con reserva los resultados en cantidades totales.
- El método manual y el método matemático dieron resultados similares en cuanto al orden de los forrajes más consumidos y menos consumidos por los corderos.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, D.C., R.E. Short, M.M. Borman, and M.D. MacNeil. 1991. Estimation of output with an intra-ruminal continuous release marker device. *J. Range Manage.* 44:204-207.
- Arnold, G.W. 1966. The special senses in grazing animals: II Smell, taste and touch and dietary habits in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 17: 531-42.
- Arnold, G.W. and Maller, R.A. 1977. Effects of nutritional experience in early and adult life on the performance and dietary habits of sheep. *Applied Anim Ethol.* 3: 5-26.
- Bugalho, M.N., Dove, H, Kelman, W., Wood, J.T and Mayes R.W. 2004. Plant wax alkanes and alcohols as herbivore diet composition markers. *Rangeland Ecology & Management.* 57: 259–268.
- Burns, J.C., Pond, K.R., Fisher, D.S..1994. Measurement of forage intake. Ei: Fahey GC, editor. *Forage Quality, Evaluation and Utilization.* Wisconsin. ASA, CSSA, SSSA. P.p.492-535.
- Butter, G.W., Bailey, R.W. 1973. *Chemistry and biochemistry of herbage.* Vol.1. London: Academic Press.
- Chen, W., Lefroy R.D., Scott, J.M. and Blair G.J. 1998. Field variations in alkane signature among plant species in “degraded” and perennial pasture on the Northern Tablelands of the New South Wales. *Aust. J. Agric. Res.* 49: 263-268
- Delgado D.C., Olivera M.C. y Navarro A. 2000. Composición de n-alcenos cuticulares en plantas tropicales. Su potencialidad como marcadores para estimar consumo y selectividad en rumiantes en pastizales. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.*; 34: 151-156.
- Dove, H. 1992. Using the n-alkanes of plant cuticular wax to estimate the species composition of herbage mixtures. *Aust. J. Res.* 43: 1711-1724.
- Dove, H., Freer, M. and Foot, J. 2000. The nutrition of grazing ewes during pregnancy and lactation: a comparison of alkane-based and chromium/in vitro-based estimates of herbage intake. *Austr. J. Agric. Res* 50:475-485.
- Dove, H. and Mayes R.W. 1991. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: A review. *Austr. J. Agric. Res.* 42:913-52.
- Dove, H. and Mayes, R.W. 1996. Plant wax components: A new approach to estimate intake and diet composition in herbivores. *J. Nutr.* 126: 13-26.
- Dove, H. and Moore, A.D. 1995. Using a least-squares optimisation procedure to estimate diet composition based on the alkanes of plant cuticular wax. *Austr. J. Agric. Res.* 46:1535-1544.

- Dove, H. and Mayes, R.W. 2003. Proc. Satellite Meeting: Wild and domestic herbivore diet characterization. 17-19 October 2003. VI International Symposium on the Nutrition of Herbivores 20-24 October 2003; Mérida (Yucatán) México.
- Drennan, M.J., Holmes, J.H.G. and W.N. Garrett. 1970. A comparison of markers for estimating the magnitude of rumen digestion. *Br. J. Nutr.* 24:961-970.
- Duncan, A.J., Mayes, R.W., Lamb, C.S., Yung, S.A. and Castillo, I. 1999. The use of naturally occurring and artificially applied n-alkanes for estimating short-term diet composition and intake in sheep. *J. Agri. Sci.* 132: 233-246.
- Dyson, W.G. and Herbin, G.A., 1968. Leaf wax alkanes as a taxonomic discriminant for cypresses grown in Kenya. *Phytochemistry*. 7: 1339- 1344.
- Englinton, G., Gonzáles, A.G., Hamilton, R.J. and Raphael, R.A. 1962. Hydrocarbons constituents of the wax coating of plants leaves: taxonomic survey. *Phytochemistry* 1: 89-102.
- Ensminger, M.E., Oldfield, J.E. and Heinemann, W.W. *Feeds and Nutrition*. 2nd Ed. The Ensminger Publishing Company, 1990. Clovis, California.
- FAO-SAGARPA, 2000. Programa de Fomento Agrícola, Fomento Ganadero, Sanidad Agropecuaria y Transferencia de Tecnología. Evaluación de la Alianza para el Campo.
- Fatar S., Rappoport Z. 1992. The chemistry of alkanes and cicloalkanes. New York: Ed. John Wiley and Sons.
- Fenton, T.W. and Fenton, M. 1979. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feces. *Can J. Anim. Sci.* 59: 631-634.
- Flores J.A. 1977. *Bromatología*. México (D.F). Ed. Limusa.
- Forbes, J.M. 1995. *Voluntary Food Intake and Diet Selection in Farm Animals*. 3rd. ed. Cab. International. UK.
- Goetsch, A.L. and Owens, F.N, 1988. Ruminal fermentation. En: Church, D.C. (editor). *The Ruminant Animal*. New Jersey. Prentice Hall. pp145-171.
- Gutiérrez A.J. 1991. *Nutrición de Rumiantes en Pastoreo*. Colección de textos Universitarios. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Hameleers, A, Mayes R.W.1998. The use of n-alkane to estimate herbage intake and diet composition by dairy cows offered a perennial ryegrass/ white clover mixture. *Grass and Forage Sci.* 53: 164-169.
- Hatfield, P.G., J.W. Walker, H.A. Glimp, and D.C. Adams. 1990. Effects of intake levels and supplemental barley on estimates of dry matter fecal output using a constant release chromic oxide bolus. *J. Anim. Sc. Suppl* 1: 41-45.

- Hatfield, P.G., Alker J.W., Fitzgerald, J.A., Glim, H.A., Hemenway, K.J. 1993. The effects of different methods of estimating fecal output on plasma cortisol, fecal output, forage intake, and weight change in free-ranging and confined wethers. *J. Anim. Sci.* 71: 618-624.
- Henley, S.R., Smith, D.G. and Raats, J.G. 2001. Evaluation of three techniques for determining diet composition. *J. Range Manage.* 54:582-588
- Herbin, G.A. and Robins P.A. 1969. Pattern of variation and development in leaf wax alkanes *Phytochemistry* 8: 1985- 1998.
- Holechek, J.L. and Gross, B.D. 1982. Training needs for quantifying simulated diets from fragmented range plants. *J. Range Manage.* 35:644-647.
- Ingleton, J.W. 1971. Faeces collection in young male lambs and wether sheep. *J.Br. Grassl. Soc.* 26:103-106.
- JMP. SAS versión 8.0 Institute, Inc. 1988-1996.
- Johnson, J.A., J.S. Caton, W. Poland, D.R. Kirby and D.V. Dhuytvetter. 1998. Influence of season on dietary composition, intake, and digestion by beef steers grazing mixed-grass prairie in the Northern Great Plains. *J. Anim. Sci.* 76:1682-1690.
- Kotb, A.R. and Luckey, T.D. 1972. Markers in nutrition. *Nutr. Abstr. Rev.* 42: 813-845.
- Kolattukudy RE. 1976. *Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes.* Amsterdam: Elsevier.
- Laca, E.A. and Demmont, M.W. 1998. Foraging strategies of grazing animals In: *The ecology and management of grazing systems.* Oxon: CABI. pp 137-158.
- Laredo, M.A., Simpson, G.D. Minson, D.J. and Orpin, C.G. 1991. The potential for using n-alkane in tropical forage as a marker for the determination of dry matter by grazing ruminants. *J Agric. Sci. Camb.* 117: 355-361.
- Lee G.C. and Nolan J.V. 2003. Source of variation in n-alkane concentration in the cuticular wax of two species of pasture plants. *Aus. J. Agric. Res.* 54: 21-26.
- Leury, B.J., Siever-Kelly, C., Gatford, K.L., Simpson, R.J. and Dove, H. 1999. Spray – topping annual grass pasture with glyphosate to delay loss of feeding value during summer. IV. Diet composition, herbage intake and performans in grazing sheep. *Aus. J. Agric. Res.* 50: 487- 495.
- Lippke, H. and Evers, G.W.1986. Forage quality under grazing for Bigbee berseem and Meteora subterranean clovers. p. 27–28. In: *Forage research in Texas.* Ext. Circ. no. CPR-4499. Texas Agric. Exp. Stn., College Station, TX.

- Lippke, H. Forbes, T.D.A. Soderstrom, P.G. Baxter, S.R. Hensarling, C.M. and Sieckenius, S.S. 1999. Ryegrass intake and ruminal characteristics related to gain in yearling steers. En: Guy Stone *et al.* (ed.) Nutritional ecology of herbivores: an integration. Fifth Int. Symp. on the Nutrition of Herbivores, San Antonio, TX. 11–16 April 1999. [CD-ROM computer file].
- Malecheck, J. C. and Provenza, F. D. 1981. Feeding behaviour and nutrition of goats on rangelands. U.S.A. Nutrition et systems d' alimentation de la chèvre. Symposium International, France- Mail ITOUC-INRA Vol.1:12/15
- Malossini, F., Piasentier, E. and Bovolenta, S. 1990. N-alkane content of some forages. J. Food Agric. Sci. 53: 405-409.
- Mauseth JD. 1988. Plant Anatomy. California: The Benjamin Cumming Publishing Company.
- Martin J.Y. and Juniper B.E. 1970. The cuticle of plants. Edinburgo Ed. Rand R.
- Mayes, R.W. and Dove, H. 2000. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. Nutrition Research and Reviews.13:107-138.
- Mayes R.W., Lambs C.S. and Colgrove P.M. 1986. The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for determination of herbage intake. J. Agric. Sci., Camb. 107: 161- 170.
- McDonald. P, Edwards. R, and Greenhalgh. J. 1988. Nutrición Animal. 4Ed. Acribia España.
- Mcjnnis, M.L., Vavra, M. and Krueger, W.C. 1983. A comparison of four methods used to determine the diet of large herbivores. J. Range Manage. 36: 302-307.
- Minson, D.J. 1990. Forage in Ruminant Nutrition.3rd ed. California: Academic Press.
- Momont, P.A. Pruitt, R.J. Emerick, R.J. and Pritchard, R.H. 1994. Controlled release chromic oxide and alkaline peroxide lignin marker methods. J. Range Manage. 47:418–423.
- Montes, J.S. 2005. Determinación del perfil de n-alcanos en forrajes de climas semi-áridos, templado, tropical húmedo y tropical seco, en época de lluvias. Tesis de licenciatura. Fac Med. Vet. y Zoot. (UNAM).
- Nacional Research Council 1985. Nutrient requirements of sheep. National Academy Press. Washington,D.C.
- Nsahlai, I.V. Umunna N.N. 1996. Comparison between reconstituted sheep faeces and rumen fluid inocula and between *in vitro* and *in sacco* digestibility methods as predictors of intake and *in vitro* digestibility. J. Agric. Sci., Camb. 126:235-248.

- Newman, J.A., Cribari-Neto, F. and Jensen, M.J. 1988 The sensitivity of n-alkane to measurement error: implications for use in the study of diet composition. *J. Agric. Sci., Camb.* 131: 475-476.
- Ohajuruka, O.A. and Palmquist, D.L. 1991. Evaluation of n-alkanes as digesta markers in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 69: 1726-1732.
- Parker, W.J., McCutchenon, S.N. and Garrick D.J. 1990. The suitability of chromium controlled release capsules for estimating herbage intakes of grazing ruminants. pp 115-154. *Proc 8th Cong. Animal Breeding and Genetics. New Zealand.*
- Piasentier, E., Bovolenta, S. and Malossini, F. 1991 N-alkanes as markers in feeding trials. *Proc. EEC Workshop on Grazing Behavior of Goats and Sheep. Bella (PZ)Italy. Cahiers Option Méditerranéennes, CIHEAM, Zaragoza.* 5:29
- Piasentier, E., Bovolenta, S. and Malossini, F. 1995 Comparison of n-alkanes or chromium oxide methods for estimation of herbage intake by sheep. *Small Rum. Res.* 18:27-32.
- Pigden, W.J, Winter, K.A, Brisson, G.J, Pritchard, G.I. 1964. Diurnal excretion of Cr_2O_3 by ruminants when administered in sustained-release pellets. *Can. J. Anim. Sci.* 44
- Provenza, F.D. and Malecheck, J.C. 1986. A comparison of food selection and foraging behavior in juvenile and adult goats. *Applied Anim. Beh. Sci.* 16: 49-61.
- Provenza, F. D. and Balph, D.F. 1990. Behavioural mechanisms of food selection. Applicability of five diet-selection models to various foraging challenges ruminants encounter. Ed. Springer- Verlag Berlin Heidelberg.
- Provenza F.D., Villalba J.J. and Dziba L.E. 2003. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Rum. Res.* 49: 257-274.
- Putman, R.J., 1984. Facts from faeces. *Mammal Review.* 14: 79-97.
- Raats, J.G. 1993. Development and testing of a remote controlled oesophageal fistula valve for goats. Ph.D. Dissertation, University of Natal, Faculty of Agriculture.
- Reid, J.T., Woolfolk, P.G., Richards, C.R. Kaufmann, R.W. Loosli, J.K., Turk, K.L., Miller, J.I. and Blaser, R.E. 1950. A new indicator method for the determination of digestibility and consumption of forages by ruminants. *J. Dairy Sci.* 33:60-71.
- Reyes, R.R. Efecto de cinco métodos de conservación sobre el perfil de n-alcenos en tres gramíneas y dos leguminosas de clima templado. Tesis de licenciatura. *Fac. Med. Vet. y Zoot. (UNAM).* 2004.
- Roger N.H. 1990. Behavioural mechanisms of food selection. Published in cooperation with NATO Scientific Affairs Division. pp. 20. Berlin Heidelberg.

- Sanders, K.D., Dahl, B.E. and Scoot, G. 1980. Bite-count vs. fecal analysis for range animal diet. *J. Range Manage.* 32:146-149.
- Smith, D.G., Mayes, R.W. and Raats, J.G.. 2001 Effect of species, plant part, and season of harvest on n-alkane concentration in the cuticular wax of common rangeland grasses from southern Africa. *Austr. J. Agric. Res.*, 52:875-882
- SPSS, version 8.0 for windows 1996.
- Tilley, J.M.A., and Terry, R.A., 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Bri. Grassland Soc.* 18: 104-111.
- Timothy C. and Dehority, A. 1986. A comparative study of feeding behavior and digestive function in dairy goats, wool sheep and hair sheep. *J. Anim. Sci.* 63:1516-1526.
- Van Soest, P.J. 1965. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: Voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. *J. Anim. Sci.* 24:834.
- Van Soest, P.J. 1982. *Nutritional Ecology of the Ruminant*: New York : Cornell University Press.
- Vavra, M., Rice, R.W. and Hansen, R.M. 1978. A comparison of esophageal fistula and fecal material to determine steer diets. *J. Range Manage.*, 31:11-13.
- Vulich, S.A., O'Riordan, E.G. and Hanrahan, J.P. 1991. Use of n-alkane for the estimation of herbage intake in sheep: accuracy and precision of the estimates. *J. Agric. Sci. Camb.*, 116: 319-323.
- Vulich, S.A., Narran, P.J. and Crowley, B.A. 1995. Modification of the analytical procedures for the determination of herbage and the faecal n-alkanes used in the estimation of herbage intake. *J. Agric. Sci. Camb.*, 124: 71-77.
- Waller, J. Merchen, N. Hanson, T. and Klopfenstein, T. 1980. Effect of sampling intervals and digesta markers on abomasal flow determinations. *J. Anim. Sci.*, 50:1122-1126.

10. ANEXOS

Anexo I

Preparación de cápsulas de n-alcános C₃₆ y C₃₂

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica, del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química, bajo la supervisión del Ing. Joaquín Pérez Ruelas y de la Q.F.B. Liliana Aguilar.

Ingredientes

MATERIA PRIMA	CANTIDAD UNITARIA (g)	CANTIDAD TOTAL 50 CÁPSULAS (G)
n-Alcano c ₃₂ ¹	0.075	3.75
n-Alcano c ₃₆ ²	0.075	3.75
Tween #20	0.0410	2.05
Aceite vegetal	0.100	5
Lactosa	0.04	2
Avicel	0.310	15.5
Total	0.641	32.05

¹ Sigma Chemical No Catálogo D4634

² Sigma Chemical No Catálogo H1 255-2

Material para la preparación de cápsulas

- ❖ 2 vasos de precipitado de 250 ml
- ❖ 1 vaso de precipitado de 50 ml
- ❖ 2 espátulas cromo niquel
- ❖ 1 calentador
- ❖ 3 agitadores de vidrio
- ❖ 1 baño maría
- ❖ 1 tamiz no.20
- ❖ 1 charola
- ❖ Papel encerado
- ❖ Bolsas de plástico
- ❖ Báscula granataria
- ❖ Cápsulas de gelatina, #1

Descripción del proceso

1. En un vaso de precipitado de 250 ml se depositan los n-alcanos, el aceite y el tween.
2. En un vaso de precipitado de 250 ml se pesa el avicel.
3. En un vaso de precipitado de 50 ml se pesa la lactosa.
4. Los n-alcanos, aceite y tween se calientan hasta lograr que los n-alcanos se derritan a una temperatura aproximada de 70°C.
5. Esta mezcla se pasa al baño maría previamente calentado, añadiéndole lentamente el avicel con un constante movimiento circular.
6. Se añade la lactosa a la mezcla, siempre manteniendo el movimiento circular.
7. Se enfría a temperatura ambiente, sin dejar de mover la mezcla.
8. Se forra la charola con papel encerado.
9. Se tamiza la mezcla y se vacía en una bolsa, previamente pesada, homogenizando por 10 min.
10. Se llenan las cápsulas con 641 mg del material cada una, lo cual asegura 60 - 65 mg de C₃₂ y 60 - 65 mg de C₃₆ en cada cápsula (32.05 g /50 cápsulas = 0.641 g / cápsula).

Anexo II

Determinación de n-alcenos en muestras de forraje y heces (Dove y Mayes, 1986, 1991)

Material

- ❖ Balanza
- ❖ Espátula
- ❖ Matraz de bola de 50 ml
- ❖ KOH
- ❖ Jeringas de 12 ml
- ❖ Silica gel
- ❖ Pipetas pasteur de 1 ml
- ❖ Viales de vidrio de 1 ml con tapa de baquelita
- ❖ Baño maría
- ❖ Soporte universal
- ❖ Refrigerantes
- ❖ Heptano
- ❖ Rotavapor

Procedimiento

1. Pesar 1 g de muestra, introducirlo al matraz de 50 ml con 5 ml de KOH y colocar en el baño maría por 3:5 h.
2. Realizar tres lavados del matraz con heptano, cada uno de 10 ml; con la pipeta Pasteur obtener el sobrenadante que se coloca en matraz de 250 ml.
3. Recuperados los 30 ml, colocar la muestra en el rotavapor, evaporarla hasta que quede una mínima cantidad, tomar con la misma pipeta Pasteur y vertir en la columna de sílica gel, por la que se filtran 10 ml de heptano.
4. Recuperar el heptano en un matraz de 10 ml para evaporar casi por completo en el rotavapor. El sobrante se toma con una pipeta, dándole un ligero lavado con heptano al matraz para así vaciarlo a un vial, identificado y perfectamente sellado.
5. Leer en cromatógrafo de gases: Para la inyección de la muestra, ésta se diluye en 300 μ l de heptano y se inyecta 1 a 2 μ l en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard Serie II 5890, equipado con una columna capilar HP5 (95% dimetil polisiloxano, 5% difenil) de 30 metros de largo, o 0.32 mm de diámetro y 0.25 μ m de fase estacionaria y con un detector de ionización de flama (aire comprimido extraseco-INFRA; hidrógeno cromatográfico pureza 99.998% - INFRA). La temperatura del inyector y del detector debe ser 250°C. La rampa de temperatura de la columna es la siguiente: 250°C por 3 min., 10° C/min hasta 300°C. Se usa nitrógeno (cromatográfico, pureza 99.998% - INFRA) como gas acarreador a un flujo de 10 psi.

Anexo III

Valorización de la concentración de n-alcános en las cápsulas administradas a los corderos.

Material

- ❖ Soxhlet
- ❖ Matraz de bola 250 ml
- ❖ Matraz de aforo de 100 ml
- ❖ Matraz de aforo de 50 ml
- ❖ Matraz de aforo de 10 ml
- ❖ Pipetas de 1 ml
- ❖ Heptano 100 ml/por muestra
- ❖ Cartuchos de celulosa
- ❖ Rotavapor
- ❖ Viales de borosilicato de 2ml con tapa

Reactivos

- ❖ Heptano (C7) (J.T.Baker, 99.5%)
- ❖ Solución hidroalcohólica de KOH etanólico (Anexo IV).
- ❖ Columna de sílica gel (Anexo IV)
- ❖ Estándar interno (C₃₄) (Anexo IV).

Procedimiento

1. La cápsula abierta se introduce en el cartucho de celulosa, que se coloca en el soxhlet. Se colocan 70 ml de heptano en un matraz de bola de 250 ml.
2. El heptano se pone en ebullición en la parrilla por 2.5 h (90°C).
3. Después de transcurridas las 2.5 h, el contenido se afora a 100 ml, se homogeniza, se toma 1 ml y se vierte en un matraz de aforo de 10 ml.
4. Al matraz de aforo se le adiciona 1 ml de estándar interno (C₃₄ 2.1 X 10⁻³ M).
5. Se toma de ahí la muestra para realizar la lectura en el cromatógrafo de gases.

Anexo IV

Preparación del estándar interno

Se pesan 7.2 mg de C₃₄ (Fluka Chemic, 97%), se coloca en un matraz volumétrico de 50 ml y se afora con heptano, quedando a una concentración de 3×10^{-4} M.

Preparación de KOH etanólico

Se pesan 57 g de KOH (Lentejas J.T. Baker, 98%), se colocan en un matraz de bola de 1 L y se le adicionan 500 ml agua purificada y 500 ml de alcohol etílico, quedando la solución a una concentración de 1 M.

Preparación de la columna de sílica gel

En la punta de una jeringa de plástico de 10 ml se pone un tapón de algodón de 0.5 cm de grosor; después se colocan 7 cm³ de cama de gel de sílica (60-200 mallas, J.T. Baker) y se humedece totalmente con heptano.

Cuadro 2. Estimación de la superficie de las parcelas experimentales, de la cantidad de forraje presente en cada una de ellas antes y después del pastoreo y cálculo promedio al consumo voluntario de los 12 corderos.

DÍAS	Superficie m ²	Cantidad de forraje		Cantidad de forraje		CMS
		Antes de pastoreo Kg MS ^{-ha}	Después del pastoreo	Antes de pastoreo	Después del pastoreo Kg MS ^{-h Parcela}	
1	200	1418	762.4	28.36	15.25	1.09
2	200	1171.2	505.6	23.42	10.11	1.11
3	300	947.2	414.4	28.42	12.43	1.33
4	900	895.2	763.2	80.57	68.69	0.99
5	600	882.4	646.4	52.94	38.78	1.18
6	600	1042.4	784	62.54	47.04	1.29
7	500	1106.4	795.2	55.32	39.76	1.3
8	500	990.4	678.4	49.52	33.92	1.3
9	400	848.8	539.2	33.95	21.57	1.03
10	300	1192	586.4	35.76	17.59	1.51
11	400	915.2	448.8	36.61	17.95	1.55
12	300	1509.6	925.6	45.29	27.77	1.46
13	300	1507.2	924.8	45.22	27.74	1.46
14	400	1439.2	843.92	57.57	33.76	1.98
promedio				45.39	29.45	1.33
máx.				80.57	68.69	1.98
min.				23.42	10.11	0.99
D.E				15.72	15.9	0.26

CMS= Consumo de materia seca

D.E= desviación estándar

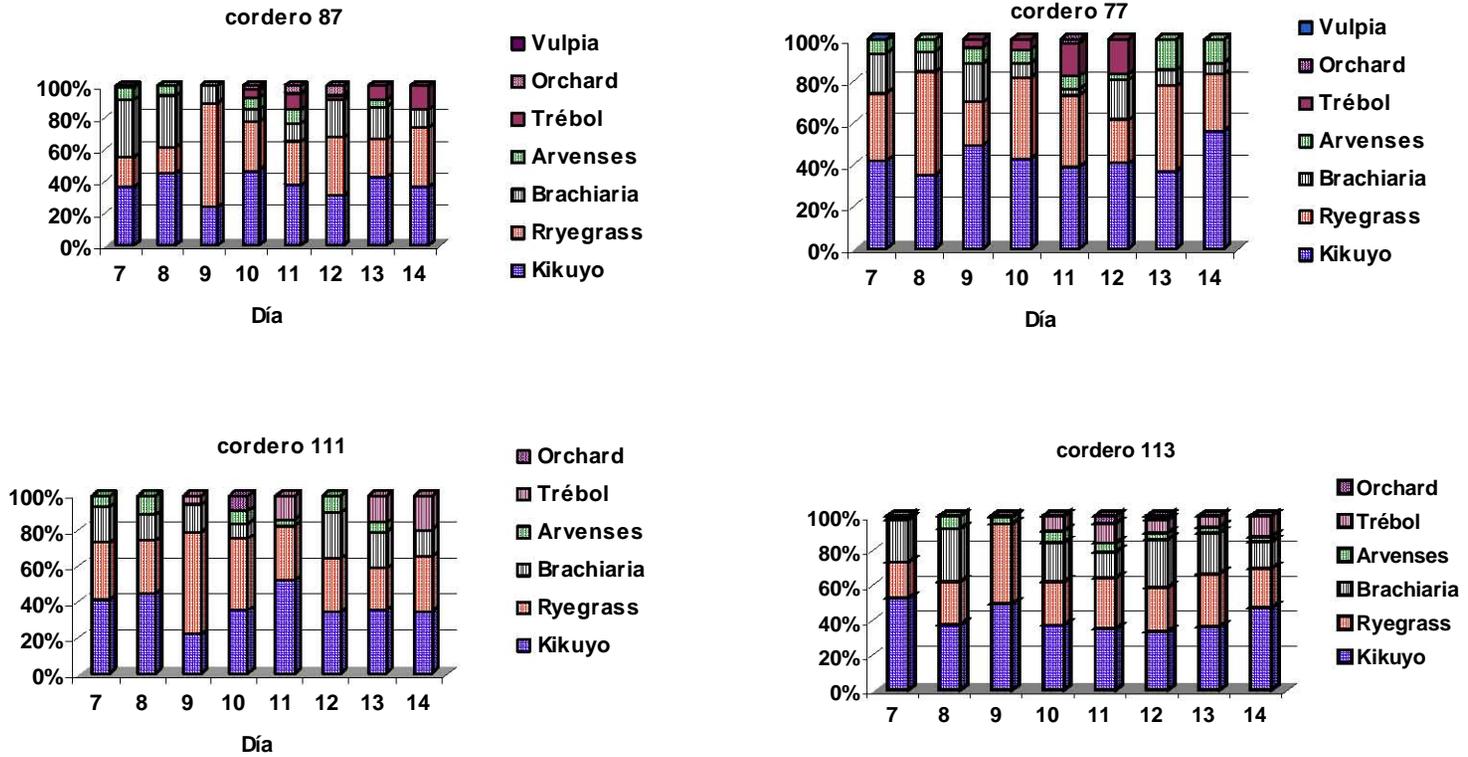


Figura 18. Estimación manual de la selectividad de cuatro corderos durante los días 7-14 de periodo experimental.

Cuadro 5. Estimación del consumo de MS (Kg^d) a través de tres métodos (M1-M3), peso inicial, peso final y ganancia diaria de peso (GDP) de 12 Corderos durante los días 7-14 experimentales.

	Cordero # 95			Cordero # 87			Cordero # 189			Cordero # 145			Cordero # 113			Cordero # 111		
Día	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
7	0.97	1.14	0.71	0.71	0.79	0.61	0.72	0.78	0.57	1.03	1.11	0.75	0.97	0.99	0.7	1.07	0.91	0.72
8	0.98	0.91	0.75	0.58	0.60	0.52	0.82	0.73	0.55	0.81	0.9	0.61	0.93	0.91	0.67	0.95	0.97	0.71
9	0.63	0.96	0.58	0.48	0.64	0.49	0.61	1.17	0.48	0.61	0.63	0.47	0.61	0.65	0.52	0.62	0.67	0.50
10	1.11	1.03	0.81	0.79	0.89	0.68	0.99	1.00	0.62	1.01	1.03	0.63	1.18	1.13	0.82	1.31	1.19	0.83
11	0.86	0.92	0.59	0.88	1.00	0.53	0.87	0.92	0.48	1.17	0.98	0.63	1.11	1.09	0.66	0.97	1.25	0.64
12	1.30	0.99	0.65	0.88	0.89	0.81	1.30	0.88	0.65	1.31	1.21	0.72	1.22	0.98	0.9	1.46	1.21	1.07
13	1.02	1.00	0.49	1.26	0.97	0.63	1.02	1.09	0.82	0.75	0.88	0.64	1.24	1.12	0.88	1.16	0.97	0.92
14	0.83	1.00	0.49	0.73	1.01	0.49	0.58	0.75	0.4	0.79	1.28	0.62	0.71	1.12	0.63	0.69	1.24	0.59
Promedio	0.96	0.99	0.63	0.79	0.85	0.60	0.86	0.92	0.57	0.94	1.00	0.63	1.00	1.00	0.72	1.03	1.05	0.68
D.E	0.20	0.07	0.12	0.24	0.16	0.11	0.24	0.16	0.13	0.24	0.21	0.08	0.24	0.16	0.13	0.29	0.21	0.12
Peso inicial (Kg)		40.8			40.3			35.7			39.4			44.8			44.7	
Peso final (Kg)		44.2			41.3			38.5			43.1			48.8			46.3	
GDP g ^{-d}		113			33			93			36			133			53	
	Cordero # 77			Cordero # 165			Cordero # 59			Cordero # 103			Cordero # 163			Cordero # 167		
Día	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
7	0.97	0.99	0.7	0.85	0.87	0.52	0.81	0.88	0.54	0.95	0.96	0.71	1.05	0.96	0.72	0.94	1	0.78
8	1.09	1.04	0.86	0.78	0.88	0.52	0.71	0.77	0.53	0.85	0.77	0.72	0.8	0.71	0.59	0.93	0.9	0.73
9	0.74	0.76	0.63	0.64	0.38	0.47	0.62	0.95	0.47	1.09	1.14	0.85	0.57	0.88	0.49	0.68	0.77	0.62
10	1.11	1.24	0.78	1.19	1.01	0.74	1.19	0.99	0.77	1.12	1.04	0.73	1.03	1.05	0.68	1.11	1.02	0.86
11	1.04	1.10	0.61	0.97	1.00	0.48	1.02	0.92	0.54	1.08	0.97	0.64	1.04	1.00	0.59	1.05	1.02	0.72
12	1.44	1.40	0.94	0.91	0.87	0.65	0.87	0.98	0.66	1.30	1.19	0.65	1.29	1.05	0.74	1.30	1.22	0.64
13	1.16	1.07	1.13	1.13	0.97	0.71	0.83	0.73	0.74	0.78	0.79	0.63	1.17	1.04	1.03	1.07	1.03	0.90
14	1.02	1.19	0.79	0.76	1.34	0.45	0.61	1.31	0.50	0.66	1.52	0.61	0.89	2.13	0.71	0.69	1.29	0.60
Promedio	1.07	1.10	0.81	0.90	0.92	0.57	0.83	0.94	0.59	0.98	1.05	0.69	0.98	1.10	0.69	0.97	1.03	0.73
D.E	0.20	0.19	0.17	0.19	0.26	0.11	0.20	0.18	0.11	0.21	0.24	0.08	0.22	0.43	0.16	0.21	0.16	0.11
Peso inicial (Kg)		43.5			39.9			36.5			38.2			41.8			43.5	
Peso final (Kg)		46.8			40.6			38.8			41.5			48.2			43.6	
GDP g ^{-d}		110			23			76			110			213			33	

M1= Relación C₃₁:C₃₂

M2= DIVMS/Cr₂O₃

M3= Relación C₃₃:C₃₂

(DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la materia seca)

Anexo v. Perfil promedio de n-alcamos de las parcelas donde los corderos pastorearon durante la fase experimental (días 7 a 14) (mg^{-kg} MS).

N-Alcano	Día (Parcelas)								Promedio	D.E
	7	8	9	10	11	12	13	14		
20	9.43	7.21	7.63	7.98	8.79	11.65	6.71	9.06	8.56	1.56
21	20.96	12.07	9.10	11.39	10.93	22.15	12.33	13.33	14.03	4.81
22	14.31	14.08	7.46	7.57	6.87	8.11	4.83	6.77	8.75	3.50
23	17.17	10.84	9.87	12.37	11.75	21.06	11.96	14.73	13.72	3.76
24	7.54	6.71	11.14	8.85	6.53	11.19	8.07	8.13	8.52	1.80
25	22.72	27.80	26.23	26.17	30.67	43.46	20.54	23.60	27.65	7.12
26	15.12	11.76	15.03	12.28	11.20	12.17	11.51	11.85	12.61	1.55
27	43.25	44.20	52.97	41.43	56.66	36.75	38.93	46.67	45.11	6.80
28	22.77	17.48	21.77	21.10	49.86	19.63	21.36	20.00	24.24	10.47
29	149.40	104.17	148.46	128.04	98.80	138.54	119.08	142.32	128.60	19.60
30	22.11	18.21	22.26	18.53	20.37	18.70	17.49	19.48	19.64	1.79
31	194.56	192.03	251.58	184.13	206.23	154.96	155.54	200.92	192.49	30.71
32	18.52	15.12	14.58	12.66	14.00	13.76	11.12	13.14	14.11	2.16
33	186.44	167.69	251.19	153.37	152.95	134.67	121.21	134.09	162.70	41.28
EI 34	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
35	110.62	84.87	54.62	40.83	88.92	48.83	60.95	94.31	72.99	24.97
36	5.31	4.24	4.51	3.88	3.06	4.13	3.46	4.31	4.11	0.68

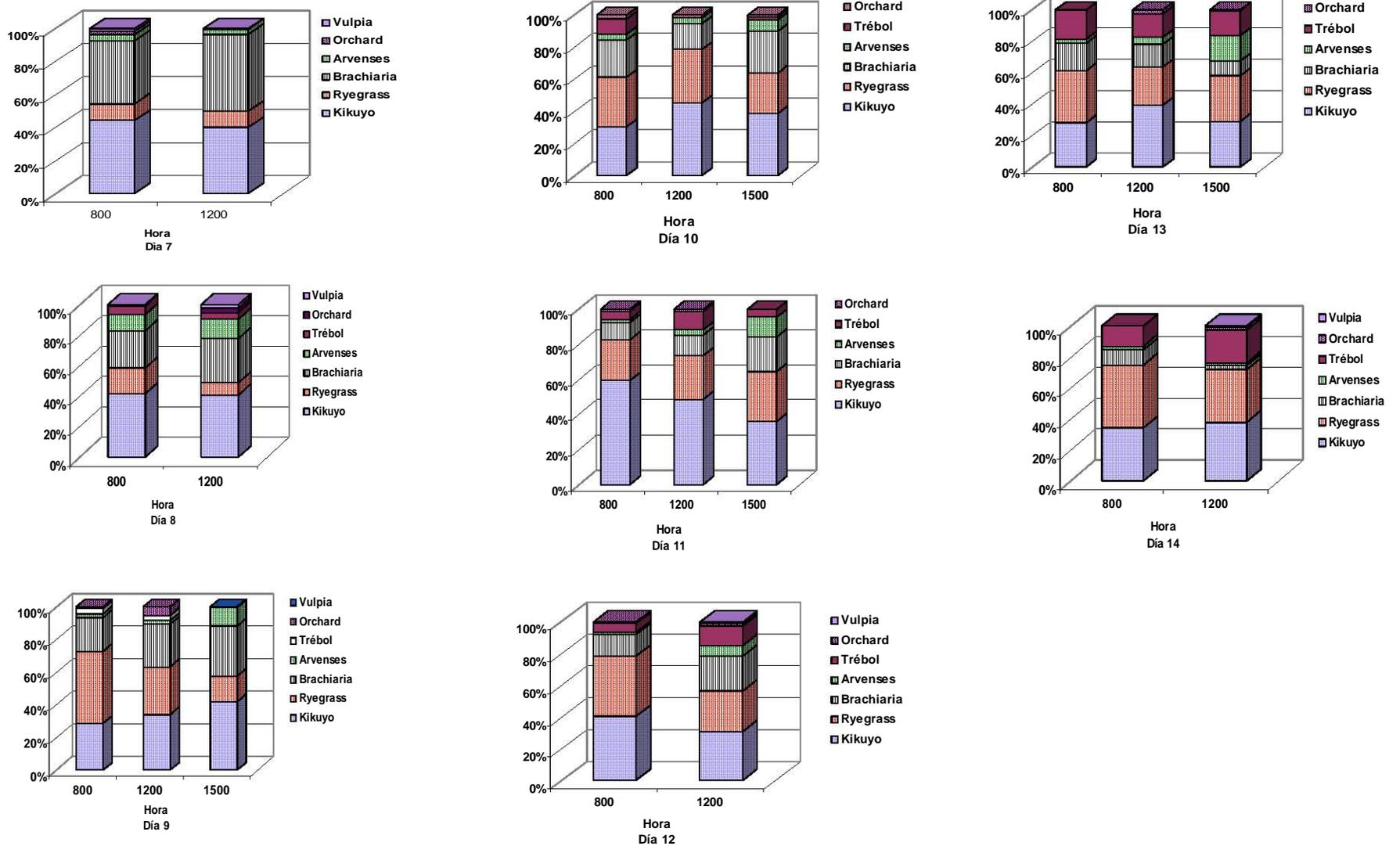
EI = estándar interno
D.E. =desviación estándar

Anexo VI. Perfil de n-alcenos por especie vegetal encontrada en las parcelas donde los corderos pastorearon.

N-Alcano	Especies forrajeras						
	Kikuyo	Ryegrass	Brachiaria	Trébol	Arvenses	Vulpia	Orchard
20	9.17	5.49	11.95	7.59	5.04	8.44	12.11
21	16.38	7.97	24.65	12.34	8.95	8.14	15.09
22	8.65	5.36	11.68	6.61	6.44	6.24	9.76
23	18.56	9.08	31.08	10.28	11.46	7.19	25.77
24	10.26	5.82	9.86	5.78	7.52	10.10	11.67
25	32.38	19.03	27.76	16.03	22.88	36.41	49.82
26	9.07	11.21	14.49	10.25	8.04	12.84	14.98
27	42.31	41.07	37.39	26.81	30.70	26.88	89.13
28	11.80	18.28	22.51	12.88	11.26	12.93	22.99
29	50.69	159.18	79.07	54.20	77.86	78.46	108.51
30	15.42	21.33	14.73	10.72	9.92	12.83	18.50
31	143.96	218.95	53.80	40.47	110.27	95.91	100.25
32	11.73	11.33	7.86	7.20	6.95	10.80	13.24
33	158.38	80.76	22.89	14.21	43.98	47.72	31.45
El 34	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
35	83.91	14.48	9.49	7.68	13.25	11.21	12.14
36	1.40	0.80	1.35	0.93	0.13	3.16	1.47

El = estándar interno

Anexo VII. Composición botánica de las parcelas en la fase de experimentación determinada con la técnica manual.



Anexo VIII. Concentración de marcadores externos en heces: Cr, (mg^{-9} de materia seca), C_{36} ($\text{mg}^{-\text{Kg}}$ de materia seca) y C_{32} ($\text{mg}^{-\text{Kg}}$ MS).

Día	Cordero 189			Cordero 87			Cordero 145		
	CROMO	C_{32}	C_{36}	CROMO	C_{32}	C_{36}	CROMO	C_{32}	C_{36}
1	334.250	174.260	143.023	238.566	129.536	107.231	193.343	221.083	182.099
2	183.514	333.685	278.292	193.369	364.030	297.929	218.955	359.950	304.668
3	841.937	327.500	277.349	1012.615	425.842	352.245	568.795	360.691	303.830
4	1082.284	274.604	225.998	1420.326	371.615	313.602	1405.745	403.236	316.906
5	990.106	308.541	251.581	1215.281	468.004	389.520	668.276	401.742	337.225
6	1167.657	384.800	341.372	1743.584	319.597	389.540	1073.233	482.859	409.661
7	1279.459	475.555	384.507	1805.273	567.702	505.317	1427.127	473.957	422.150
8	1187.825	434.880	410.910	1719.025	636.340	599.591	1883.975	547.471	474.942
9	1155.246	607.021	593.077	1350.239	684.300	672.063	1397.880	671.780	571.215
10	1189.969	447.105	367.391	1340.308	494.328	454.627	1372.819	557.372	464.446
11	1459.145	447.036	395.640	1648.661	462.530	420.077	1426.820	433.498	403.021
12	1319.944	437.473	412.671	1240.304	378.137	389.266	1242.997	436.446	390.698
13	1173.503	402.973	397.470	1246.637	502.271	403.458	1290.870	421.211	412.656
14	1335.409	389.079	406.491	1155.541	437.303	428.990	1065.941	427.497	390.681

Anexo VIII. Continuación

Día	Cordero 113			Cordero 103			Cordero 77		
	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆
1	283.783	150.642	123.066	250.259	124.457	101.937	208.593	132.817	106.487
2	263.263	330.100	267.438	253.266	341.558	290.877	363.082	333.685	278.292
3	1049.615	437.236	374.463	855.492	330.869	279.987	917.797	347.657	281.311
4	1394.530	424.021	330.608	1625.899	359.964	319.603	1377.168	376.382	285.630
5	1338.369	424.021	330.608	1143.628	427.349	363.430	1092.266	308.541	251.581
6	1276.988	383.750	342.744	1152.014	423.527	362.095	1281.204	408.210	337.208
7	1323.044	505.553	424.271	1358.659	636.556	537.654	1117.531	561.726	471.412
8	1383.297	577.009	480.012	1632.896	555.664	478.694	1166.530	551.110	465.288
9	1364.377	459.002	394.868	1099.161	380.925	389.678	1166.702	511.360	427.080
10	1254.314	453.019	446.479	1363.931	568.891	511.491	1141.251	452.144	456.702
11	1270.207	413.144	404.161	1321.251	475.646	448.311	1368.431	552.696	488.863
12	1225.766	454.238	404.699	1531.580	474.480	403.874	988.044	435.257	401.687
13	1259.759	415.188	404.154	1452.805	445.848	412.748	1073.114	400.680	381.532
14	6178.438	435.007	436.524	1098.754	472.058	426.542	1378.144	446.531	405.150
Día	Cordero 59			Cordero 167			Cordero 95		
	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆
1	-65.802	125.016	102.328	238.602	177.500	153.468	147.988	122.006	96.271
2	33.018	330.823	270.680	184.386	297.549	217.813	201.476	264.887	263.707
3	672.956	330.869	279.987	1120.564	377.116	297.544	1099.742	397.454	313.183
4	1421.032	359.964	319.603	1294.806	360.907	299.820	1379.252	379.807	326.593
5	1253.593	427.349	363.430	1039.820	370.749	325.867	1102.237	448.788	328.082
6	1235.589	319.597	389.540	1163.564	356.782	331.610	1099.742	473.770	411.231
7	1463.621	439.649	356.396	1356.895	429.048	363.058	1355.162	527.795	437.178
8	1392.242	542.872	453.204	1109.434	515.974	444.289	1271.492	504.524	422.585
9	1247.455	499.853	430.242	1243.917	443.619	420.541	1299.075	648.856	599.809
10	1426.474	529.485	503.999	1244.207	554.778	504.961	1491.494	447.838	366.023
11	1362.896	534.014	449.083	1421.599	418.379	396.745	1323.701	428.010	382.962
12	1371.589	461.492	412.228	982.641	459.676	400.985	1368.235	437.076	395.304
13	1559.575	395.040	394.088	1504.795	401.129	389.056	1142.117	431.835	401.103
14	1001.876	433.231	412.979	2200.788	437.637	397.439	1081.992	444.823	395.908

Anexo VIII. Continuación

Día	Cordero 111			Cordero 163			Cordero 165		
	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆
1	329.087	188.889	159.001	238.471	147.509	128.900	193.399	145.111	119.266
2	217.161	287.136	250.025	208.163	297.826	263.059	213.568	272.890	250.461
3	1099.532	402.394	341.476	1143.942	279.640	256.708	1052.233	354.722	272.369
4	1337.159	336.576	298.530	1462.330	253.879	263.857	1317.361	335.148	292.841
5	872.977	391.260	335.431	1058.966	429.869	365.232	1119.537	374.687	328.993
6	1325.845	469.068	371.404	1230.691	396.053	342.113	1247.522	473.770	411.231
7	1584.102	380.611	390.112	1410.570	512.219	462.065	1337.435	577.614	515.678
8	1170.674	646.080	585.125	1388.745	573.002	500.816	1071.096	662.685	562.576
9	1076.591	545.487	461.588	1416.468	499.107	446.121	3287.867	653.843	529.365
10	1416.060	541.999	457.932	1348.916	542.216	498.200	1399.463	534.035	504.637
11	1421.012	634.029	501.777	1227.853	485.481	443.832	1699.013	415.820	400.934
12	1414.710	474.480	380.790	1243.801	433.321	407.844	1228.387	419.758	413.590
13	958.314	416.564	390.677	1490.924	431.167	391.644	1405.770	456.638	408.077
14	1055.755	496.157	415.173	628.601	317.403	271.332	1794.824	484.848	413.526

Anexo IX. Cálculo de producción fecal (g MS^{-d}) para cada cordero durante la fase experimental con el n-alcano C₃₆ y óxido de cromo (Cr).

Día	Cordero 95		Cordero 87		Cordero 189		Cordero 145		Cordero 113		Cordero 163	
	C ₃₆	Cr										
7	274.5	267.3	237.5	231.3	307.6	326.8	284.3	290.1	282.8	281.1	259.7	282.7
8	284.0	288.6	200.1	179.3	205.1	181.6	252.7	269.5	250.0	227.5	239.6	210.5
9	200.1	181.9	178.6	173.9	260.0	244.7	210.1	178.8	303.9	311.7	269.0	241.4
10	327.8	287.8	264.0	214.4	262.0	249.4	258.4	273.2	268.8	251.2	240.9	253.6
11	313.3	368.2	285.7	296.1	239.2	288.8	297.8	322.8	296.9	287.4	270.4	295.0
12	303.6	345.5	308.3	253.4	315.1	343.8	307.1	279.1	296.5	283.6	294.2	298.1
13	299.2	291.7	297.4	291.6	307.2	265.0	290.8	334.4	296.9	235.7	306.4	311.0
14	303.1	256.2	279.7	208.1	289.0	264.4	307.2	314.0	274.9	313.8	442.3	445.3
Promedio	288.2	285.9	256.9	231.1	273.1	270.6	276.0	282.8	283.8	274.0	290.3	292.2
D.E.	39.2	56.6	46.9	46.9	30.6	50.1	33.6	48.3	18.3	32.6	65.5	70.4

Día	Cordero 111		Cordero 77		Cordero 165		Cordero 59		Cordero 103		Cordero 167	
	C ₃₆	Cr										
7	312.1	306.0	254.6	258.2	232.7	255.7	336.7	335.8	223.2	228.2	330.5	320.9
8	292.0	293.2	257.9	228.6	213.3	219.0	264.8	269.3	250.7	215.3	270.1	261.6
9	202.3	208.7	281.0	259.9	226.7	210.9	278.9	263.3	307.9	318.3	285.3	104.3
10	326.6	299.7	262.8	239.8	237.8	247.0	238.1	248.6	234.6	242.1	237.6	244.8
11	303.3	324.3	245.5	273.0	299.3	302.6	267.2	272.8	267.7	272.2	302.5	295.2
12	290.8	346.9	298.7	278.2	290.1	348.9	291.1	281.3	297.1	251.8	299.3	246.9
13	301.9	319.1	314.5	219.4	294.1	307.8	304.5	300.8	290.7	326.6	308.4	290.3
14	295.2	248.2	296.2	271.6	290.2	267.6	290.6	290.5	281.3	154.7	301.9	278.1
Promedio	290.5	293.3	276.4	253.6	260.5	269.9	284.0	282.2	269.1	251.2	291.9	255.3
D.E.	35.5	41.7	24.8	20.4	36.0	44.0	29.5	25.1	30.6	52.3	28.0	61.9

Anexo 1. Concentración promedio de los n-alcenos en las diferentes especies forrajeras Ryegrass (*Lolium perenne*), Kikuyo (*Penicetum clandestinum*), Trébol blanco (*Trifolium repens*), Nativo (*Brachiaria Mediana Hitchc*), Vulpia (*vulpia*), Orchard (*Dactylis glomerata*), Arvenses (combinación principalmente de leguminosas nativas del lugar) encontradas en las praderas utilizadas los días de experimentación (7-14). En donde se observa la mayor concentración mg Alk/kg de muestra en MS de los alcanos C₂₉, C₃₁, C₃₃ principalmente.

ALCANO											
ESPECIE	25	26	27	28	29	30	31	32	33	35	36
KIKUYO	32	9	42	12	51	15	144	12	158	84	1
RYEGRASS	19	11	41	18	159	21	219	11	81	14	1
ARVENSES	23	8	31	11	78	10	110	7	44	13	0
BRACHIARIA	28	14	37	13	79	15	54	8	23	9	1
TRÉBOL	16	10	27	13	74	11	40	7	14	8	1
VULPIA	36	13	27	13	78	13	96	11	48	11	3
ORCHARD	50	15	89	23	109	19	100	13	31	12	1

Consumo Voluntario mg(alc C31:C32)/kg(mx)								
ANIMAL	DIA							
	7	8	9	10	11	12	13	14
95	0.973	0.981	0.627	1.113	0.865	1.300	1.024	0.826
87	0.707	0.582	0.485	0.795	0.881	0.885	1.258	0.730
189	0.717	0.821	0.610	0.986	0.871	1.300	1.023	0.578
145	1.033	0.809	0.605	1.014	1.175	1.307	0.752	0.792
113	0.974	0.932	0.606	1.183	1.115	1.219	1.238	0.711
111	1.066	0.950	0.621	1.314	0.965	1.463	1.157	0.689
77	0.974	1.089	0.740	1.112	1.044	1.438	1.164	1.023
165	0.852	0.779	0.643	1.193	0.974	0.907	1.129	0.756
59	0.805	0.713	0.617	1.186	1.015	0.865	0.832	0.613
103	0.948	0.849	1.090	1.124	1.079	1.300	0.777	0.658
163	1.049	0.805	0.567	1.026	1.035	1.291	1.169	0.894
167	0.941	0.928	0.683	1.110	1.051	1.300	1.074	0.691

Consumo Voluntario Cr/DIVMS mg/kg

ANIMAL	DIA							
	7	8	9	10	11	12	13	14
95	1.143	0.908	0.964	1.027	0.922	0.986	1.004	1.000
87	0.787	0.604	0.637	0.886	1.001	0.889	0.973	1.005
189	0.776	0.726	1.165	1.000	0.921	0.883	1.090	0.747
145	1.112	0.896	0.629	1.030	0.977	1.205	0.884	1.277
113	0.987	0.909	0.655	1.129	1.092	0.978	1.116	1.121
111	0.910	0.973	0.666	1.189	1.245	1.211	0.974	1.237
77	0.989	1.041	0.764	1.238	1.097	1.396	1.065	1.191
165	0.870	0.882	0.382	1.011	0.998	0.865	0.969	1.343
59	0.879	0.771	0.951	0.991	0.923	0.975	0.732	1.312
103	0.957	0.767	1.141	1.038	0.972	1.194	0.787	1.516
163	0.962	0.710	0.884	1.048	0.998	1.045	1.038	2.125
167	1.000	0.901	0.772	1.020	1.023	1.223	1.027	1.293

Producción fecal mg/d

Día	Animal 95		Animal 87		Animal 189		Animal 145		Animal 113		Animal 163	
	ALK	CR	ALK	CR	ALK	CR	ALK	CR	ALK	CR	ALK	CR
7	274	267	237	231	308	327	284	290	283	281	260	283
8	284	289	200	179	205	182	253	270	250	227	240	211
9	200	182	179	174	260	245	210	179	304	312	269	241
10	328	288	264	214	262	249	258	273	269	251	241	254
11	313	368	286	296	239	289	298	323	297	287	270	295
12	304	345	308	253	315	344	307	279	297	284	294	298
13	299	292	297	292	307	265	291	334	297	236	306	311
14	303	256	280	208	289	264	307	314	275	314	442	445

Producción fecal mg/d

Día	Animal 111		Animal 77		Animal 165		Animal 59		Animal 103		Animal 167	
	ALK	CR	ALK	CR	ALK	CR	ALK	CR	ALK	CR	ALK	CR
7	312	306	255	258	233	256	337	336	223	228	331	321
8	292	293	258	229	213	219	265	269	251	215	270	262
9	202	209	281	260	227	211	279	263	308	318	285	104
10	327	300	263	240	238	247	238	249	235	242	238	245
11	303	324	245	273	299	303	267	273	268	272	302	295
12	291	347	299	278	290	349	291	281	297	252	299	247
13	302	319	315	219	294	308	305	301	291	327	308	290
14	295	248	296	272	290	268	291	291	281	155	302	278

% Digestibilidad Alcanos (C31:C32/C36)									
	DÍA								
ANIMAL	7	8	9	10	11	12	13	14	PROMEDIO
95	72	71	68	71	64	77	71	63	70
87	66	66	63	67	68	65	76	62	67
189	57	75	57	73	73	76	70	50	66
145	72	69	65	75	75	77	61	61	69
113	71	73	50	77	73	76	76	61	70
111	71	69	67	75	69	80	74	57	70
77	74	76	62	76	76	79	73	71	74
165	73	73	65	80	69	68	74	62	70
59	58	63	55	80	74	66	63	53	64
103	76	70	72	79	75	77	63	57	71
163	75	70	53	77	74	77	74	51	69
167	65	71	58	79	71	77	71	56	69
PROMEDIO	69	71	61	76	72	75	71	59	

%Digestibilidad Cromo (C31:C32/Cr)									
	DÍA								
ANIMAL	7	8	9	10	11	12	13	14	PROMEDIO
95	73	71	71	74	57	73	72	69	70
87	67	69	64	73	66	71	77	71	70
189	54	78	60	75	67	74	74	54	67
145	72	67	70	73	73	79	56	60	69
113	71	76	49	79	74	77	81	56	70
111	71	69	66	77	66	76	72	64	70
77	73	79	65	78	74	81	81	73	76
165	70	72	67	79	69	62	73	65	70
59	58	62	57	79	73	67	64	53	64
103	76	75	71	78	75	81	58	76	74
163	73	74	57	75	72	77	73	50	69
167	66	72	85	78	72	81	73	60	73
PROMEDIO	69	72	65	77	70	75	71	63	

%Digestibilidad Alcano (C31)**DÍA**

ANIMAL	7	8	9	10	11	12	13	14	PROMEDIO
95	73	72	70	73	63	77	70	65	70
87	66	63	62	64	64	63	78	59	65
189	55	75	62	75	74	78	70	55	68
145	71	70	69	75	70	78	59	62	69
113	72	75	54	73	68	78	73	57	69
111	72	67	66	76	65	79	72	51	68
77	74	77	68	72	75	79	69	71	73
165	72	74	71	78	64	68	75	64	71
59	61	66	61	79	73	71	60	53	66
103	77	72	69	78	71	78	62	59	71
163	74	70	56	75	70	78	73	55	69
167	65	73	60	77	66	78	69	59	68
PROMEDIO	69	71	64	75	69	75	69	59	

Anexo. 2. Concentración de marcadores en heces

ANIMAL MARCADOR	189			87			145		
	CROMO*	C32**	C36**	CROMO	C32	C36	CROMO	C32	C36
1	334.250	174.260	143.023	238.566	129.536	107.231	193.343	221.083	182.099
2	183.514	333.685	278.292	193.369	364.030	297.929	218.955	359.950	304.668
3	841.937	327.500	277.349	1012.615	425.842	352.245	568.795	360.691	303.830
4	1082.284	274.604	225.998	1420.326	371.615	313.602	1405.745	403.236	316.906
5	990.106	308.541	251.581	1215.281	468.004	389.520	668.276	401.742	337.225
6	1167.657	384.800	341.372	1743.584	319.597	389.540	1073.233	482.859	409.661
7	1279.459	475.555	384.507	1805.273	567.702	505.317	1427.127	473.957	422.150
8	1187.825	434.880	410.910	1719.025	636.340	599.591	1883.975	547.471	474.942
9	1155.246	607.021	593.077	1350.239	684.300	672.063	1397.880	671.780	571.215
10	1189.969	447.105	367.391	1340.308	494.328	454.627	1372.819	557.372	464.446
11	1459.145	447.036	395.640	1648.661	462.530	420.077	1426.820	433.498	403.021
12	1319.944	437.473	412.671	1240.304	378.137	389.266	1242.997	436.446	390.698
13	1173.503	402.973	397.470	1246.637	502.271	403.458	1290.870	421.211	412.656
14	1335.409	389.079	406.491	1155.541	437.303	428.990	1065.941	427.497	390.681

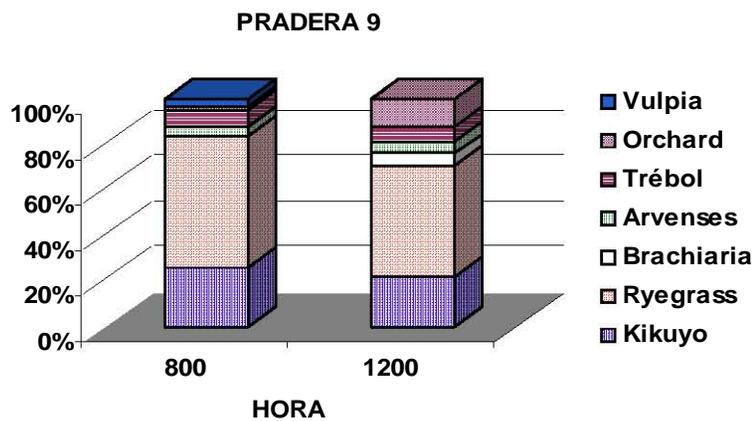
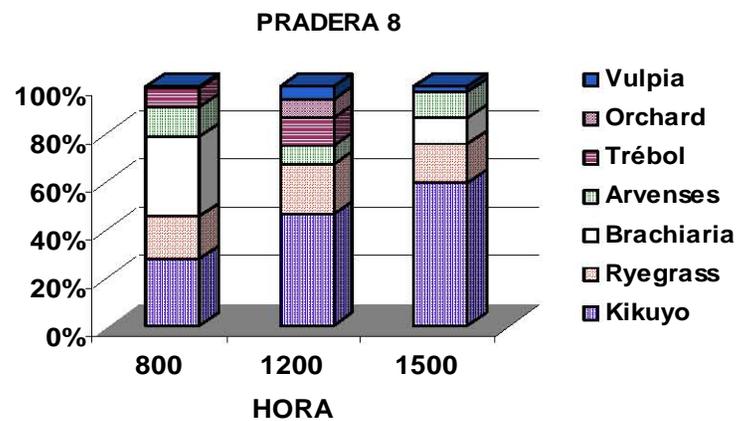
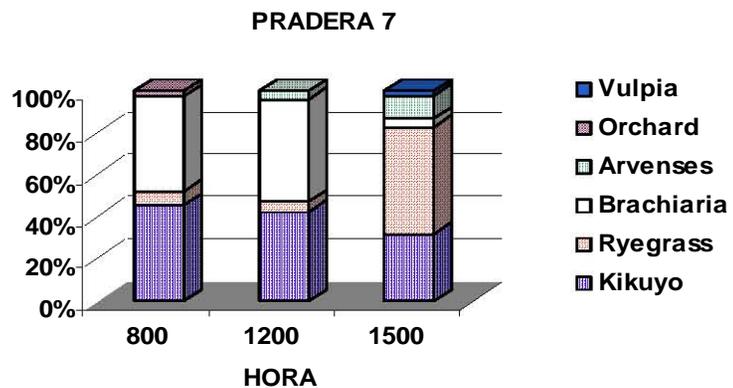
ANIMAL MARCADOR	113			103			77		
	CROMO	C32	C36	CROMO	C32	C36	CROMO	C32	C36
1	283.783	150.642	123.066	250.259	124.457	101.937	208.593	132.817	106.487
2	263.263	330.100	267.438	253.266	341.558	290.877	363.082	333.685	278.292
3	1049.615	437.236	374.463	855.492	330.869	279.987	917.797	347.657	281.311
4	1394.530	424.021	330.608	1625.899	359.964	319.603	1377.168	376.382	285.630
5	1338.369	424.021	330.608	1143.628	427.349	363.430	1092.266	308.541	251.581
6	1276.988	383.750	342.744	1152.014	423.527	362.095	1281.204	408.210	337.208
7	1323.044	505.553	424.271	1358.659	636.556	537.654	1117.531	561.726	471.412
8	1383.297	577.009	480.012	1632.896	555.664	478.694	1166.530	551.110	465.288
9	1364.377	459.002	394.868	1099.161	380.925	389.678	1166.702	511.360	427.080
10	1254.314	453.019	446.479	1363.931	568.891	511.491	1141.251	452.144	456.702
11	1270.207	413.144	404.161	1321.251	475.646	448.311	1368.431	552.696	488.863
12	1225.766	454.238	404.699	1531.580	474.480	403.874	988.044	435.257	401.687
13	1259.759	415.188	404.154	1452.805	445.848	412.748	1073.114	400.680	381.532
14	6178.438	435.007	436.524	1098.754	472.058	426.542	1378.144	446.531	405.150

ANIMAL MARCADOR	59			167			95		
	CROMO	C32	C36	CROMO	C32	C36	CROMO	C32	C36
1	-65.802	125.016	102.328	238.602	177.500	153.468	147.988	122.006	96.271
2	33.018	330.823	270.680	184.386	297.549	217.813	201.476	264.887	263.707
3	672.956	330.869	279.987	1120.564	377.116	297.544	1099.742	397.454	313.183
4	1421.032	359.964	319.603	1294.806	360.907	299.820	1379.252	379.807	326.593
5	1253.593	427.349	363.430	1039.820	370.749	325.867	1102.237	448.788	328.082
6	1235.589	319.597	389.540	1163.564	356.782	331.610	1099.742	473.770	411.231
7	1463.621	439.649	356.396	1356.895	429.048	363.058	1355.162	527.795	437.178
8	1392.242	542.872	453.204	1109.434	515.974	444.289	1271.492	504.524	422.585
9	1247.455	499.853	430.242	1243.917	443.619	420.541	1299.075	648.856	599.809
10	1426.474	529.485	503.999	1244.207	554.778	504.961	1491.494	447.838	366.023
11	1362.896	534.014	449.083	1421.599	418.379	396.745	1323.701	428.010	382.962
12	1371.589	461.492	412.228	982.641	459.676	400.985	1368.235	437.076	395.304
13	1559.575	395.040	394.088	1504.795	401.129	389.056	1142.117	431.835	401.103
14	1001.876	433.231	412.979	2200.788	437.637	397.439	1081.992	444.823	395.908

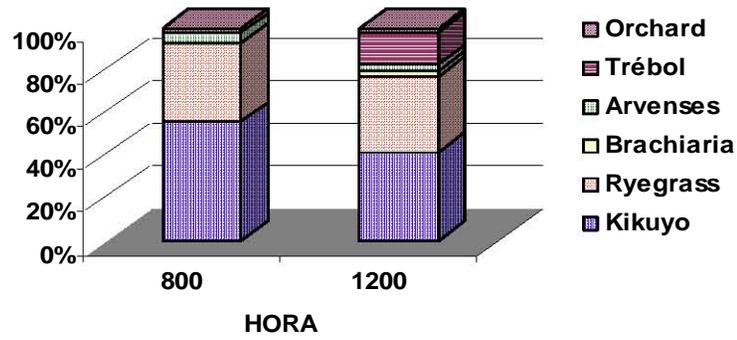
ANIMAL MARCADOR	111			163			165		
	CROMO	C32	C36	CROMO	C32	C36	CROMO	C32	C36
1	329.087	188.889	159.001	238.471	147.509	128.900	193.399	145.111	119.266
2	217.161	287.136	250.025	208.163	297.826	263.059	213.568	272.890	250.461
3	1099.532	402.394	341.476	1143.942	279.640	256.708	1052.233	354.722	272.369
4	1337.159	336.576	298.530	1462.330	253.879	263.857	1317.361	335.148	292.841
5	872.977	391.260	335.431	1058.966	429.869	365.232	1119.537	374.687	328.993
6	1325.845	469.068	371.404	1230.691	396.053	342.113	1247.522	473.770	411.231
7	1584.102	380.611	390.112	1410.570	512.219	462.065	1337.435	577.614	515.678
8	1170.674	646.080	585.125	1388.745	573.002	500.816	1071.096	662.685	562.576
9	1076.591	545.487	461.588	1416.468	499.107	446.121	3287.867	653.843	529.365
10	1416.060	541.999	457.932	1348.916	542.216	498.200	1399.463	534.035	504.637
11	1421.012	634.029	501.777	1227.853	485.481	443.832	1699.013	415.820	400.934
12	1414.710	474.480	380.790	1243.801	433.321	407.844	1228.387	419.758	413.590
13	958.314	416.564	390.677	1490.924	431.167	391.644	1405.770	456.638	408.077
14	1055.755	496.157	415.173	628.601	317.403	271.332	1794.824	484.848	413.526

* mg / g

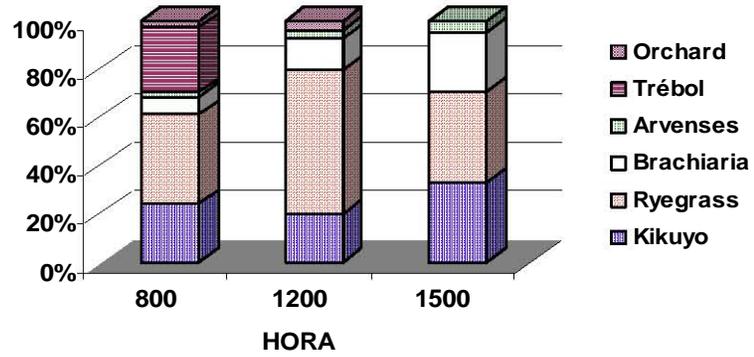
** mg / kg



PRADERA 11



PRADERA 10



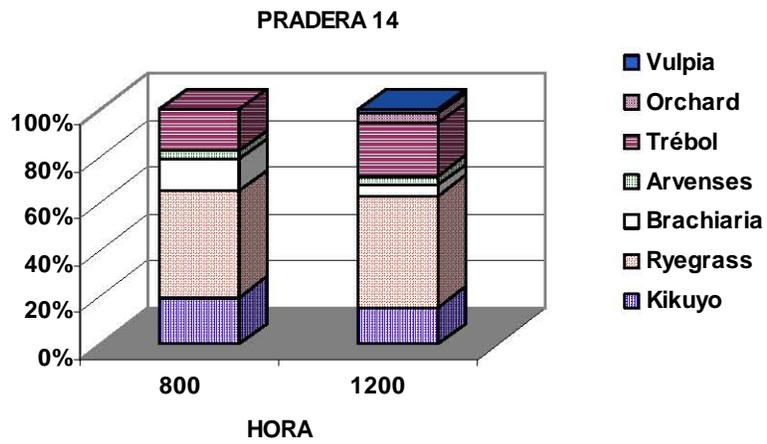
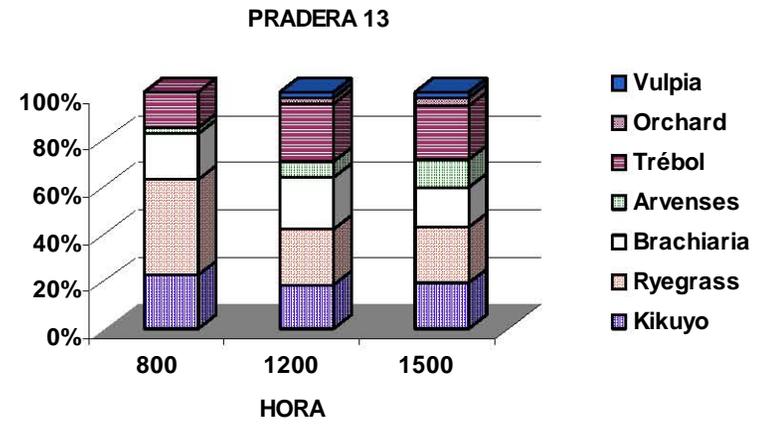
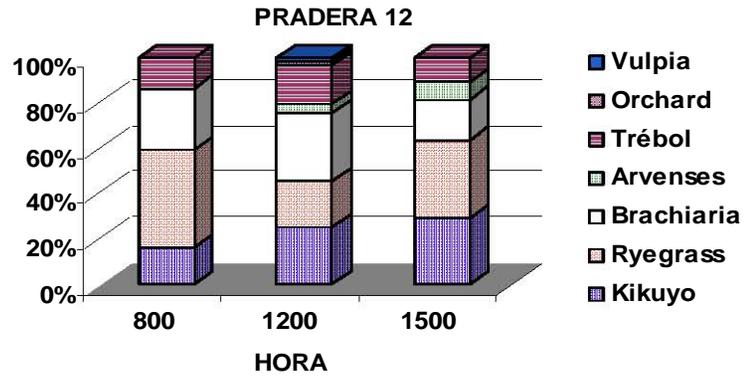
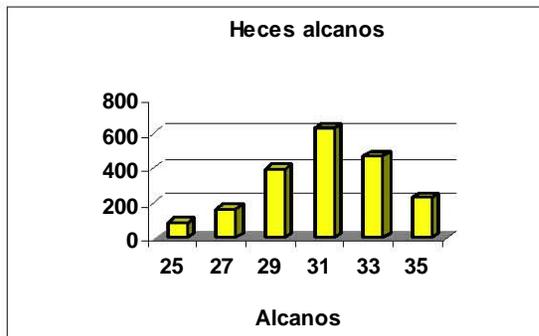
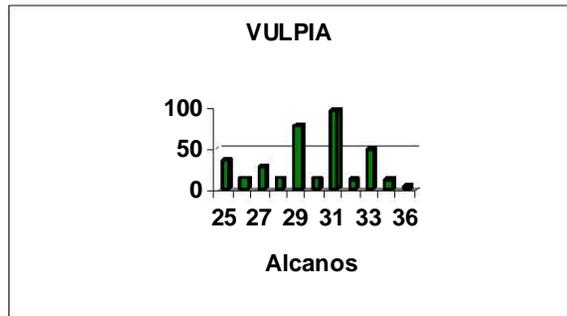
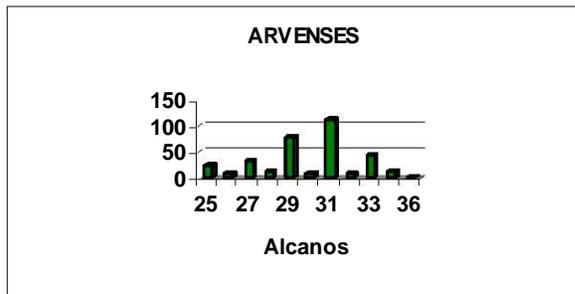
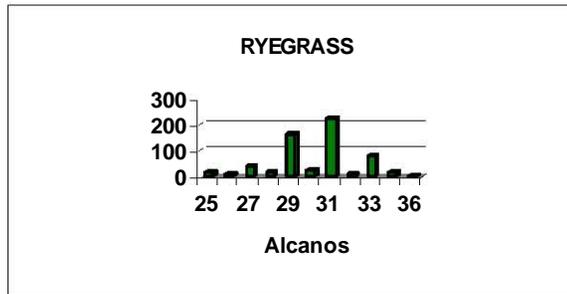
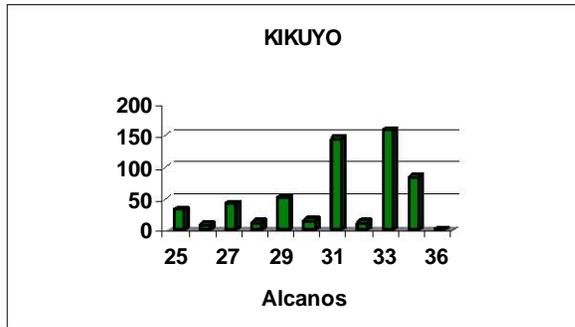
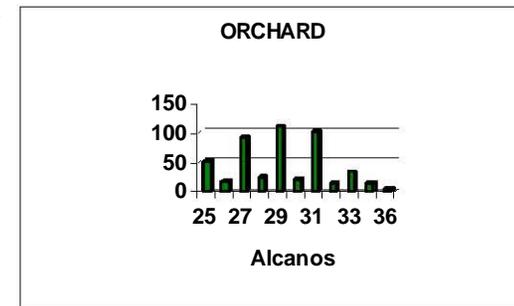
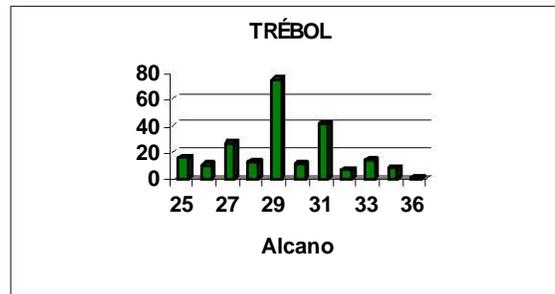
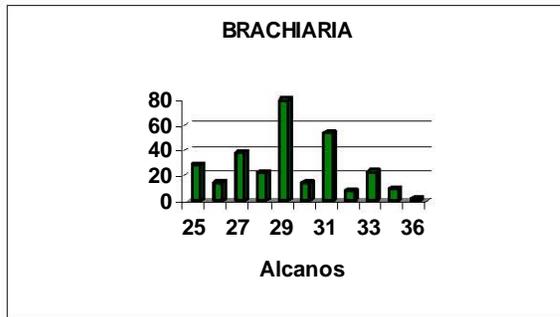


Fig. 36 Modelo de concentración de alcanos (mg/kg MS) de las diferentes especies forrajeras utilizadas para la estimación de la composición botánica, determinados en concentraciones muestras fecales de ovinos en pastoreo.





Cuadro 2. Estimación de la superficie de las parcelas experimentales, de la cantidad de forraje presente en cada una de ellas antes y después del pastoreo y cálculo promedio al consumo voluntario de los 12 corderos.

DÍAS	Superficie m ²	Cantidad de forraje		Cantidad de forraje		CMS
		Antes de pastoreo Kg MS ^{-ha}	Después del pastoreo Kg MS ^{-ha}	Antes de pastoreo Kg MS ^{-h Parcela}	Después del pastoreo Kg MS ^{-h Parcela}	
1	200	1418	762.4	28.36	15.25	1.09
2	200	1171.2	505.6	23.42	10.11	1.11
3	300	947.2	414.4	28.42	12.43	1.33
4	900	895.2	763.2	80.57	68.69	0.99
5	600	882.4	646.4	52.94	38.78	1.18
6	600	1042.4	784	62.54	47.04	1.29
7	500	1106.4	795.2	55.32	39.76	1.3
8	500	990.4	678.4	49.52	33.92	1.3
9	400	848.8	539.2	33.95	21.57	1.03
10	300	1192	586.4	35.76	17.59	1.51
11	400	915.2	448.8	36.61	17.95	1.55
12	300	1509.6	925.6	45.29	27.77	1.46
13	300	1507.2	924.8	45.22	27.74	1.46
14	400	1439.2	843.92	57.57	33.76	1.98

promedio

máx.

min.

D.E

45.39

80.57

23.42

15.72

29.45

68.69

10.11

15.9

1.33

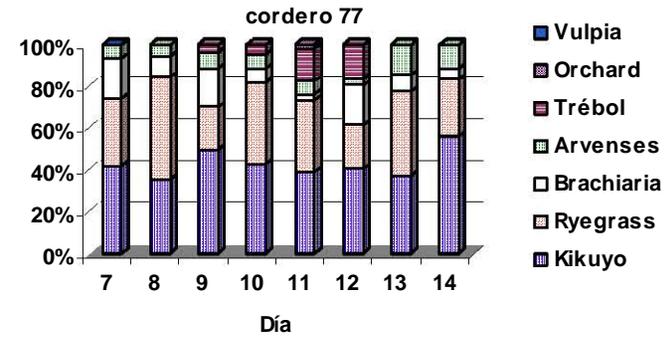
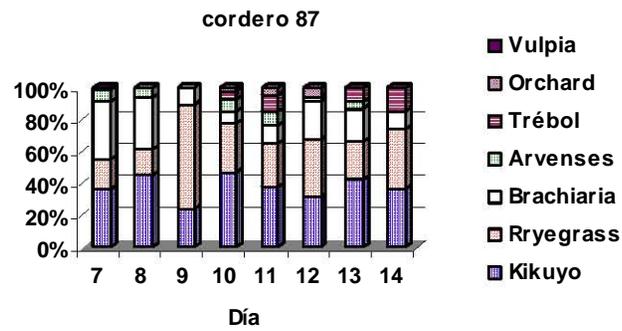
1.98

0.99

0.26

CMS= Consumo de materia seca

D.E= desviación estándar



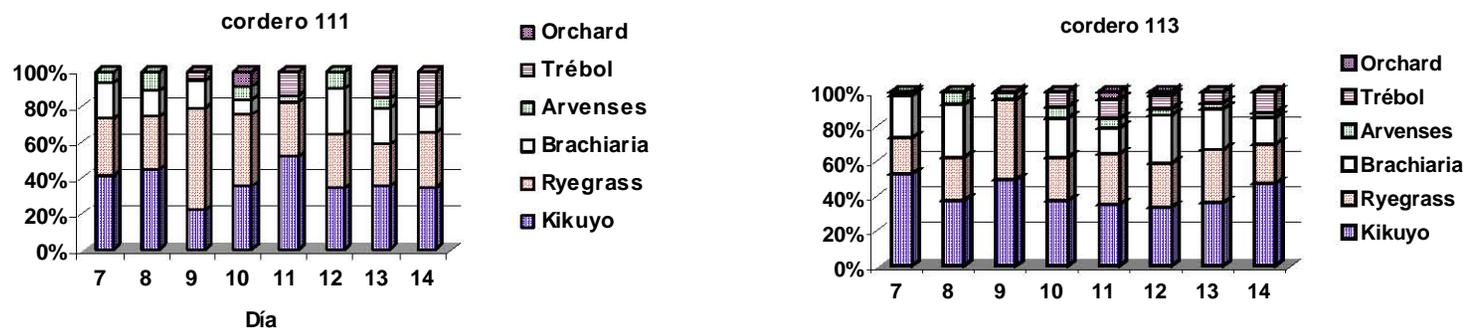


Figura 18. Estimación manual de la selectividad de cuatro corderos durante los días 7-14 de periodo experimental.

Cuadro 5. Estimación del consumo de MS (Kg^{d}) a través de tres métodos (M1-M3), peso inicial, peso final y ganancia diaria de peso (GDP) de 12 Corderos durante los días 7-14 experimentales.

Día	Cordero # 95			Cordero # 87			Cordero # 189			Cordero # 145			Cordero # 113			Cordero # 111		
	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
7	0.97	1.14	0.71	0.71	0.79	0.61	0.72	0.78	0.57	1.03	1.11	0.75	0.97	0.99	0.7	1.07	0.91	0.72
8	0.98	0.91	0.75	0.58	0.60	0.52	0.82	0.73	0.55	0.81	0.9	0.61	0.93	0.91	0.67	0.95	0.97	0.71
9	0.63	0.96	0.58	0.48	0.64	0.49	0.61	1.17	0.48	0.61	0.63	0.47	0.61	0.65	0.52	0.62	0.67	0.50
10	1.11	1.03	0.81	0.79	0.89	0.68	0.99	1.00	0.62	1.01	1.03	0.63	1.18	1.13	0.82	1.31	1.19	0.83
11	0.86	0.92	0.59	0.88	1.00	0.53	0.87	0.92	0.48	1.17	0.98	0.63	1.11	1.09	0.66	0.97	1.25	0.64
12	1.30	0.99	0.65	0.88	0.89	0.81	1.30	0.88	0.65	1.31	1.21	0.72	1.22	0.98	0.9	1.46	1.21	1.07
13	1.02	1.00	0.49	1.26	0.97	0.63	1.02	1.09	0.82	0.75	0.88	0.64	1.24	1.12	0.88	1.16	0.97	0.92
14	0.83	1.00	0.49	0.73	1.01	0.49	0.58	0.75	0.4	0.79	1.28	0.62	0.71	1.12	0.63	0.69	1.24	0.59
Promedio	0.96	0.99	0.63	0.79	0.85	0.60	0.86	0.92	0.57	0.94	1.00	0.63	1.00	1.00	0.72	1.03	1.05	0.68
D.E	0.20	0.07	0.12	0.24	0.16	0.11	0.24	0.16	0.13	0.24	0.21	0.08	0.24	0.16	0.13	0.29	0.21	0.12

Peso inicial (Kg)	40.8			40.3			35.7			39.4			44.8			44.7		
Peso final (Kg)	44.2			41.3			38.5			43.1			48.8			46.3		
GDP g ^{-d}	113			33			93			36			133			53		
	Cordero # 77			Cordero # 165			Cordero # 59			Cordero # 103			Cordero # 163			Cordero # 167		
Día	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
7	0.97	0.99	0.7	0.85	0.87	0.52	0.81	0.88	0.54	0.95	0.96	0.71	1.05	0.96	0.72	0.94	1	0.78
8	1.09	1.04	0.86	0.78	0.88	0.52	0.71	0.77	0.53	0.85	0.77	0.72	0.8	0.71	0.59	0.93	0.9	0.73
9	0.74	0.76	0.63	0.64	0.38	0.47	0.62	0.95	0.47	1.09	1.14	0.85	0.57	0.88	0.49	0.68	0.77	0.62
10	1.11	1.24	0.78	1.19	1.01	0.74	1.19	0.99	0.77	1.12	1.04	0.73	1.03	1.05	0.68	1.11	1.02	0.86
11	1.04	1.10	0.61	0.97	1.00	0.48	1.02	0.92	0.54	1.08	0.97	0.64	1.04	1.00	0.59	1.05	1.02	0.72
12	1.44	1.40	0.94	0.91	0.87	0.65	0.87	0.98	0.66	1.30	1.19	0.65	1.29	1.05	0.74	1.30	1.22	0.64
13	1.16	1.07	1.13	1.13	0.97	0.71	0.83	0.73	0.74	0.78	0.79	0.63	1.17	1.04	1.03	1.07	1.03	0.90
14	1.02	1.19	0.79	0.76	1.34	0.45	0.61	1.31	0.50	0.66	1.52	0.61	0.89	2.13	0.71	0.69	1.29	0.60
Promedio	1.07	1.10	0.81	0.90	0.92	0.57	0.83	0.94	0.59	0.98	1.05	0.69	0.98	1.10	0.69	0.97	1.03	0.73
D.E	0.20	0.19	0.17	0.19	0.26	0.11	0.20	0.18	0.11	0.21	0.24	0.08	0.22	0.43	0.16	0.21	0.16	0.11
Peso inicial (Kg)	43.5			39.9			36.5			38.2			41.8			43.5		
Peso final (Kg)	46.8			40.6			38.8			41.5			48.2			43.6		
GDP g ^{-d}	110			23			76			110			213			33		

M1= Relación C₃₁:C₃₂ M2= DIVMS/Cr₂O₃ M3= Relación C₃₃:C₃₂ (DIVMS = digestibilidad *in vitro* de la materia seca)

Anexo v. Perfil promedio de n-alcános de las parcelas donde los corderos pastorearon durante la fase experimental (días 7 a 14) (mg^{-Kg} MS).

N-Alcano	Día (Parcelas)									Promedio	D.E
	7	8	9	10	11	12	13	14			
20	9.43	7.21	7.63	7.98	8.79	11.65	6.71	9.06	8.56	1.56	
21	20.96	12.07	9.10	11.39	10.93	22.15	12.33	13.33	14.03	4.81	
22	14.31	14.08	7.46	7.57	6.87	8.11	4.83	6.77	8.75	3.50	
23	17.17	10.84	9.87	12.37	11.75	21.06	11.96	14.73	13.72	3.76	
24	7.54	6.71	11.14	8.85	6.53	11.19	8.07	8.13	8.52	1.80	
25	22.72	27.80	26.23	26.17	30.67	43.46	20.54	23.60	27.65	7.12	
26	15.12	11.76	15.03	12.28	11.20	12.17	11.51	11.85	12.61	1.55	
27	43.25	44.20	52.97	41.43	56.66	36.75	38.93	46.67	45.11	6.80	

	28	22.77	17.48	21.77	21.10	49.86	19.63	21.36	20.00	24.24	10.47
	29	149.40	104.17	148.46	128.04	98.80	138.54	119.08	142.32	128.60	19.60
	30	22.11	18.21	22.26	18.53	20.37	18.70	17.49	19.48	19.64	1.79
	31	194.56	192.03	251.58	184.13	206.23	154.96	155.54	200.92	192.49	30.71
	32	18.52	15.12	14.58	12.66	14.00	13.76	11.12	13.14	14.11	2.16
	33	186.44	167.69	251.19	153.37	152.95	134.67	121.21	134.09	162.70	41.28
EI 34		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	35	110.62	84.87	54.62	40.83	88.92	48.83	60.95	94.31	72.99	24.97
	36	5.31	4.24	4.51	3.88	3.06	4.13	3.46	4.31	4.11	0.68

EI = estándar interno

D.E. =desviación estándar

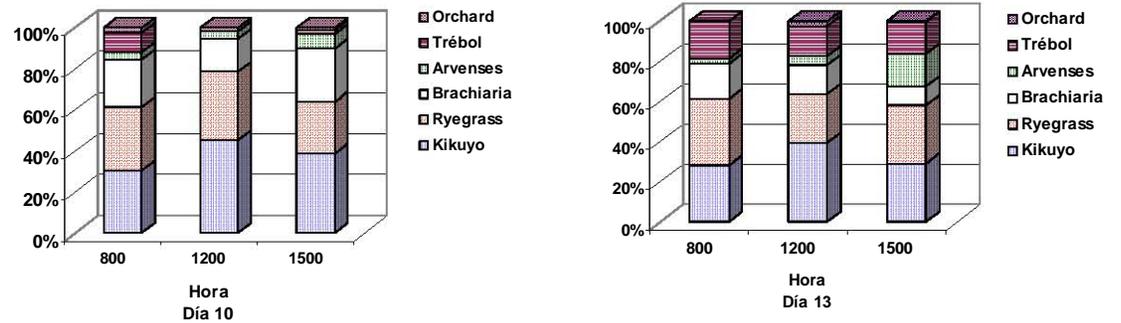
Anexo VI. Perfil de n-alcanos por especie vegetal encontrada en las parcelas donde los corderos pastorearon.

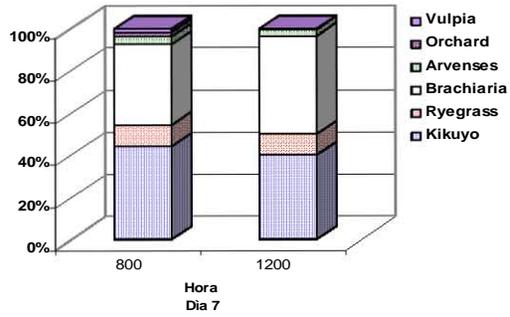
Especies forrajeras							
N-Alcano	Kikuyo	Ryegrass	Brachiaria	Trébol	Arvenses	Vulpia	Orchard
20	9.17	5.49	11.95	7.59	5.04	8.44	12.11
21	16.38	7.97	24.65	12.34	8.95	8.14	15.09
22	8.65	5.36	11.68	6.61	6.44	6.24	9.76
23	18.56	9.08	31.08	10.28	11.46	7.19	25.77
24	10.26	5.82	9.86	5.78	7.52	10.10	11.67
25	32.38	19.03	27.76	16.03	22.88	36.41	49.82
26	9.07	11.21	14.49	10.25	8.04	12.84	14.98
27	42.31	41.07	37.39	26.81	30.70	26.88	89.13
28	11.80	18.28	22.51	12.88	11.26	12.93	22.99
29	50.69	159.18	79.07	54.20	77.86	78.46	108.51

30	15.42	21.33	14.73	10.72	9.92	12.83	18.50
31	143.96	218.95	53.80	40.47	110.27	95.91	100.25
32	11.73	11.33	7.86	7.20	6.95	10.80	13.24
33	158.38	80.76	22.89	14.21	43.98	47.72	31.45
El 34	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
35	83.91	14.48	9.49	7.68	13.25	11.21	12.14
36	1.40	0.80	1.35	0.93	0.13	3.16	1.47

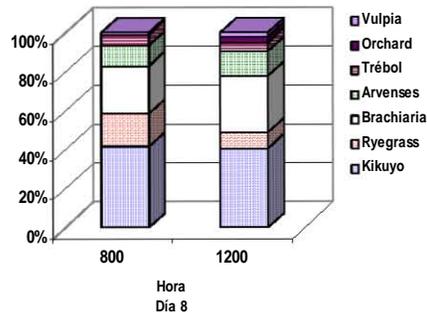
El = estándar interno

Anexo VII. Composición botánica de las parcelas en la fase de experimentación determinada con la técnica manual.

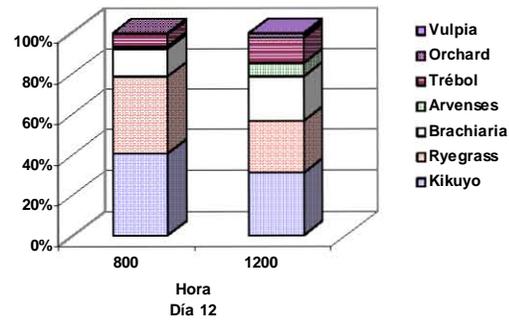
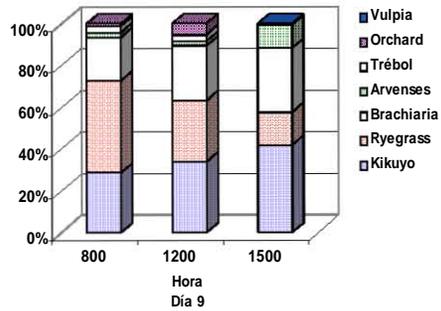
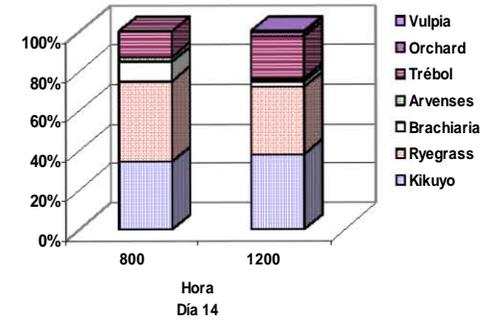
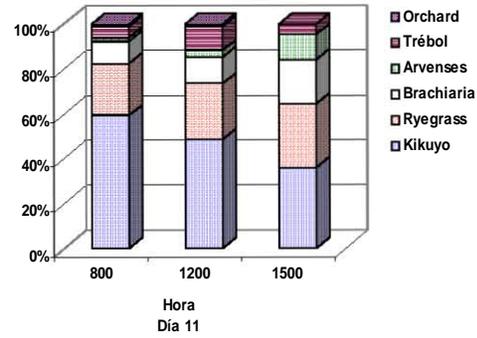




Anexo VIII. Concentración de marcadores externos en heces: Cr, ($\text{mg}^{-\text{g}}$ de materia seca),



C_{36} ($\text{mg}^{-\text{kg}}$ de materia seca) y C_{32} ($\text{mg}^{-\text{kg}}$ MS).



Día	Cordero 189			Cordero 87			Cordero 145		
	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆
1	334.250	174.260	143.023	238.566	129.536	107.231	193.343	221.083	182.099
2	183.514	333.685	278.292	193.369	364.030	297.929	218.955	359.950	304.668
3	841.937	327.500	277.349	1012.615	425.842	352.245	568.795	360.691	303.830
4	1082.284	274.604	225.998	1420.326	371.615	313.602	1405.745	403.236	316.906
5	990.106	308.541	251.581	1215.281	468.004	389.520	668.276	401.742	337.225
6	1167.657	384.800	341.372	1743.584	319.597	389.540	1073.233	482.859	409.661
7	1279.459	475.555	384.507	1805.273	567.702	505.317	1427.127	473.957	422.150
8	1187.825	434.880	410.910	1719.025	636.340	599.591	1883.975	547.471	474.942
9	1155.246	607.021	593.077	1350.239	684.300	672.063	1397.880	671.780	571.215
10	1189.969	447.105	367.391	1340.308	494.328	454.627	1372.819	557.372	464.446
11	1459.145	447.036	395.640	1648.661	462.530	420.077	1426.820	433.498	403.021
12	1319.944	437.473	412.671	1240.304	378.137	389.266	1242.997	436.446	390.698
13	1173.503	402.973	397.470	1246.637	502.271	403.458	1290.870	421.211	412.656
14	1335.409	389.079	406.491	1155.541	437.303	428.990	1065.941	427.497	390.681

Anexo VIII. Continuación

	Cordero 113	Cordero 103	Cordero 77
--	--------------------	--------------------	-------------------

Día	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆
1	283.783	150.642	123.066	250.259	124.457	101.937	208.593	132.817	106.487
2	263.263	330.100	267.438	253.266	341.558	290.877	363.082	333.685	278.292
3	1049.615	437.236	374.463	855.492	330.869	279.987	917.797	347.657	281.311
4	1394.530	424.021	330.608	1625.899	359.964	319.603	1377.168	376.382	285.630
5	1338.369	424.021	330.608	1143.628	427.349	363.430	1092.266	308.541	251.581
6	1276.988	383.750	342.744	1152.014	423.527	362.095	1281.204	408.210	337.208
7	1323.044	505.553	424.271	1358.659	636.556	537.654	1117.531	561.726	471.412
8	1383.297	577.009	480.012	1632.896	555.664	478.694	1166.530	551.110	465.288
9	1364.377	459.002	394.868	1099.161	380.925	389.678	1166.702	511.360	427.080
10	1254.314	453.019	446.479	1363.931	568.891	511.491	1141.251	452.144	456.702
11	1270.207	413.144	404.161	1321.251	475.646	448.311	1368.431	552.696	488.863
12	1225.766	454.238	404.699	1531.580	474.480	403.874	988.044	435.257	401.687
13	1259.759	415.188	404.154	1452.805	445.848	412.748	1073.114	400.680	381.532
14	6178.438	435.007	436.524	1098.754	472.058	426.542	1378.144	446.531	405.150
	Cordero 59			Cordero 167			Cordero 95		
Día	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆
1	-65.802	125.016	102.328	238.602	177.500	153.468	147.988	122.006	96.271
2	33.018	330.823	270.680	184.386	297.549	217.813	201.476	264.887	263.707
3	672.956	330.869	279.987	1120.564	377.116	297.544	1099.742	397.454	313.183
4	1421.032	359.964	319.603	1294.806	360.907	299.820	1379.252	379.807	326.593
5	1253.593	427.349	363.430	1039.820	370.749	325.867	1102.237	448.788	328.082
6	1235.589	319.597	389.540	1163.564	356.782	331.610	1099.742	473.770	411.231
7	1463.621	439.649	356.396	1356.895	429.048	363.058	1355.162	527.795	437.178
8	1392.242	542.872	453.204	1109.434	515.974	444.289	1271.492	504.524	422.585
9	1247.455	499.853	430.242	1243.917	443.619	420.541	1299.075	648.856	599.809
10	1426.474	529.485	503.999	1244.207	554.778	504.961	1491.494	447.838	366.023
11	1362.896	534.014	449.083	1421.599	418.379	396.745	1323.701	428.010	382.962
12	1371.589	461.492	412.228	982.641	459.676	400.985	1368.235	437.076	395.304
13	1559.575	395.040	394.088	1504.795	401.129	389.056	1142.117	431.835	401.103
14	1001.876	433.231	412.979	2200.788	437.637	397.439	1081.992	444.823	395.908

Anexo VIII. Continuación

Día	Cordero 111			Cordero 163			Cordero 165		
	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆	CROMO	C ₃₂	C ₃₆
1	329.087	188.889	159.001	238.471	147.509	128.900	193.399	145.111	119.266
2	217.161	287.136	250.025	208.163	297.826	263.059	213.568	272.890	250.461
3	1099.532	402.394	341.476	1143.942	279.640	256.708	1052.233	354.722	272.369
4	1337.159	336.576	298.530	1462.330	253.879	263.857	1317.361	335.148	292.841
5	872.977	391.260	335.431	1058.966	429.869	365.232	1119.537	374.687	328.993
6	1325.845	469.068	371.404	1230.691	396.053	342.113	1247.522	473.770	411.231
7	1584.102	380.611	390.112	1410.570	512.219	462.065	1337.435	577.614	515.678
8	1170.674	646.080	585.125	1388.745	573.002	500.816	1071.096	662.685	562.576
9	1076.591	545.487	461.588	1416.468	499.107	446.121	3287.867	653.843	529.365
10	1416.060	541.999	457.932	1348.916	542.216	498.200	1399.463	534.035	504.637
11	1421.012	634.029	501.777	1227.853	485.481	443.832	1699.013	415.820	400.934
12	1414.710	474.480	380.790	1243.801	433.321	407.844	1228.387	419.758	413.590
13	958.314	416.564	390.677	1490.924	431.167	391.644	1405.770	456.638	408.077
14	1055.755	496.157	415.173	628.601	317.403	271.332	1794.824	484.848	413.526

Anexo IX. Cálculo de producción fecal (g MS^{-d}) para cada cordero durante la fase experimental con el n-alcano C₃₆ y óxido de cromo (Cr).

Día	Cordero 95		Cordero 87		Cordero 189		Cordero 145		Cordero 113		Cordero 163	
	C ₃₆	Cr										
7	274.5	267.3	237.5	231.3	307.6	326.8	284.3	290.1	282.8	281.1	259.7	282.7
8	284.0	288.6	200.1	179.3	205.1	181.6	252.7	269.5	250.0	227.5	239.6	210.5
9	200.1	181.9	178.6	173.9	260.0	244.7	210.1	178.8	303.9	311.7	269.0	241.4
10	327.8	287.8	264.0	214.4	262.0	249.4	258.4	273.2	268.8	251.2	240.9	253.6
11	313.3	368.2	285.7	296.1	239.2	288.8	297.8	322.8	296.9	287.4	270.4	295.0
12	303.6	345.5	308.3	253.4	315.1	343.8	307.1	279.1	296.5	283.6	294.2	298.1
13	299.2	291.7	297.4	291.6	307.2	265.0	290.8	334.4	296.9	235.7	306.4	311.0
14	303.1	256.2	279.7	208.1	289.0	264.4	307.2	314.0	274.9	313.8	442.3	445.3
Promedio	288.2	285.9	256.9	231.1	273.1	270.6	276.0	282.8	283.8	274.0	290.3	292.2
D.E.	39.2	56.6	46.9	46.9	30.6	50.1	33.6	48.3	18.3	32.6	65.5	70.4

Día	Cordero 111		Cordero 77		Cordero 165		Cordero 59		Cordero 103		Cordero 167	
	C ₃₆	Cr										
7	312.1	306.0	254.6	258.2	232.7	255.7	336.7	335.8	223.2	228.2	330.5	320.9
8	292.0	293.2	257.9	228.6	213.3	219.0	264.8	269.3	250.7	215.3	270.1	261.6
9	202.3	208.7	281.0	259.9	226.7	210.9	278.9	263.3	307.9	318.3	285.3	104.3
10	326.6	299.7	262.8	239.8	237.8	247.0	238.1	248.6	234.6	242.1	237.6	244.8
11	303.3	324.3	245.5	273.0	299.3	302.6	267.2	272.8	267.7	272.2	302.5	295.2
12	290.8	346.9	298.7	278.2	290.1	348.9	291.1	281.3	297.1	251.8	299.3	246.9
13	301.9	319.1	314.5	219.4	294.1	307.8	304.5	300.8	290.7	326.6	308.4	290.3
14	295.2	248.2	296.2	271.6	290.2	267.6	290.6	290.5	281.3	154.7	301.9	278.1
Promedio	290.5	293.3	276.4	253.6	260.5	269.9	284.0	282.2	269.1	251.2	291.9	255.3
D.E.	35.5	41.7	24.8	20.4	36.0	44.0	29.5	25.1	30.6	52.3	28.0	61.9