

EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y DE LA EDAD DE CORTE SOBRE LA DIGESTIBILIDAD INTESTINAL *In vitro* DE LA PROTEÍNA DEL PASTO KIKUYO (*Pennisetum clandestinum* Hochst)

NITROGEN FERTILIZATION EFFECT AND CUT AGE ON THE *In vitro* INTESTINAL DIGESTIBILITY OF KIKUYO GRASS (*Pennisetum clandestinum* Hochst) PROTEIN

Marcelo Castañeda Colorado¹; Mónica Duque Quintero²; Rubén Darío Galvis Goez³; Héctor Jairo Correa Cardona⁴

Resumen. Con la finalidad de evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada y de la edad de corte sobre la digestibilidad intestinal *In vitro* de la proteína del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst), se seleccionaron 16 parcelas a las cuales se les asignó uno de los siguientes tratamientos (cuatro parcelas/tratamiento): T1 (30 días de corte y 0 kg/N/Ha/Corte), T2 (60 días de corte y 0 kg/N/Ha/Corte), T3 (60 días de corte y 50 kg/N/Ha/Corte) y T4 (30 días de corte y 50 kg/N/Ha/Corte). Luego de 120 días de tratamiento se recolectaron 5 submuestras de cada parcela con las que se conformó una muestra final para cada parcela en las que se analizó el contenido de proteína cruda y se realizó la prueba de degradabilidad ruminal a 16 horas y la prueba de digestibilidad intestinal *In vitro* de la proteína por el método de los tres pasos. Los resultados mostraron que no hubo efecto de la edad de corte, ni de la fertilización nitrogenada sobre el porcentaje de proteína cruda del pasto kikuyo. Los valores de digestibilidad intestinal como porcentaje de la proteína no degradable en rumen fueron: 52,51%, 56,14% para las praderas sin fertilizar con edad de corte de 30 y 60 días respectivamente y 43,38%, 45,40% para las praderas fertilizadas con edad de corte de 30 y 60 días respectivamente.

Palabras claves: Forrajes, método *In vitro* de los tres pasos, valoración nutricional.

Abstract. With the purpose of evaluating the effect of the nitrogen fertilization and cut age on the *In vitro* intestinal digestibility of kikuyo grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst) protein, 16 plots were made, everyone assigned one of the following treatments (four plots per treatment): T1 (30 cut -day and 0 kg/ N/ Ha/ cut), T2 (60 cut-day and 0 kg/ N/ Ha/ cut), T3 (60 cut-day and 50 kg/ N/ Ha/ cut) and T4 (30 cut-day and 50kg/ N/ Ha/ cut). 120 days after the treatment, 5 sub-samples were harvested of each plot, which were defined as final samples for each plot and, were realized to these samples a ruminal degradability trial for 16 hours and *In vitro* three-step method of intestinal protein digestibility trial. There didn't was effect by the cut age neither the nitrogen fertilization on the crude protein of kikuyo grass. The intestinal digestibility expressed in percentage of the non-degradable rumen protein were 52.51% and 56.14% for non-fertilized plots with a cut age of 30 and 60 days respectively, and 43.38% and 45.40% for fertilized plots with a cut age of 30 and 60 days respectively.

Key words: *In vitro* three step method, forage, nutritional valuation.

En Colombia, los valores de la digestibilidad intestinal de la proteína (DIP) de los forrajes son poco conocidos, debido a que no se ha reconocido su importancia para la alimentación de los rumiantes. Recientemente, el National Research Council (NRC) de los Estados Unidos publicó las necesidades de nutrientes para ganado lechero (2001), en el cual la evaluación de la calidad proteica de los alimentos así como las necesidades proteicas se expresan en términos de proteína

metabolizable (PM) y ésta a su vez comprende la PNDR (Proteína no degradable en rumen), proteína microbiana y proteína enfógena, que conforman la proteína que se va digerir intestinalmente.

Si las recomendaciones del NRC se van a aplicar en Colombia, debe conocerse éste valor para los recursos y bajo las condiciones de producción en el país, y de este modo utilizar estos avanzados conceptos en la alimentación de las vacas lecheras.

¹ Zootecnista. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. A.A. 1779, Medellín, Colombia.

<mac2003un@yahoo.com.ar>

² Zootecnista. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. A.A. 1779, Medellín, Colombia.

<mdduque@unalmed.edu.co>

³ Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. A.A. 1779, Medellín, Colombia.

<rdgalvis@unal.edu.co>

⁴ Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias. A.A. 1779, Medellín, Colombia.

<hjecorrea@unalmed.edu.co>

Recibido Agosto 1 de 2007; aceptado: Mayo 6 de 2008

Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín 61(2): 4646-4653. 2008

El principal limitante para la utilización de estos conceptos es la falta de técnicas confiables para la estimación de la digestibilidad intestinal de las proteínas. La estimación *In vivo* de la digestión intestinal de la proteína implica altos costos y experimentos de intensa labor y requiere el uso de animales preparados quirúrgicamente (Hvelplund, Weisbjerg y Soegaard, 1999). La digestión aparente de la proteína, es calculada como la desaparición de la proteína cruda (PC) o aminoácidos en el duodeno e ileon, lo cuál está sujeto considerablemente a errores asociados con la muestra a digerir, el uso de marcadores en la digesta para la tasa de flujo y las variaciones inherentes al animal. Por consiguiente, existen varias alternativas de procedimientos para la estimación de la digestión intestinal de la proteína en rumiantes que pueden ser utilizados, como son: La técnica de las bolsas móviles *In situ* que fue elaborada para determinar la digestión intestinal de la proteína (Stern, Bach y Calsamiglia, 1997).

Ésta valoración nutricional proteica de los forrajes recomendada por el NRC (2001) está basada en la determinación *In situ* de la DIP, pero también puede utilizarse el método propuesto por Calsamiglia y Stern (1995); éste es llamado el método *In vitro* de tres pasos y es considerado una prueba adecuada para este análisis, dada su sólida fundamentación puesto que simula las condiciones fisiológicas de la digestión en los rumiantes, incluyendo los efectos potenciales de la fermentación ruminal. En ésta investigación se utilizó éste método para la determinación de la DIP del forraje.

Más recientemente, la técnica de los tres pasos combina los métodos *In situ* e *In vitro*, que fue desarrollada para estimar la digestibilidad intestinal de la proteína en rumiantes (Calsamiglia y Stern, 1995) en suplementos proteicos. Otros procedimientos fueron propuestos para predecir la calidad de la proteína y la digestibilidad de la PC (Stern y Bach, 1997).

El procedimiento de los tres pasos fue desarrollado para estimar la digestión intestinal de las proteínas en rumiantes. Esta técnica: 1) simula estrechamente las condiciones fisiológicas de los rumiantes, incluyendo los efectos potenciales de la fermentación ruminal; 2) es rápida, confiable y económica; 3) es aplicable a amplia variedad de suplementos proteicos; y 4) refleja exactamente las diferencias en

la digestión de la proteína (Calsamiglia y Stern, 1995).

Dado que en Colombia la fertilización nitrogenada, así como la edad de corte son los factores que tienen mayor efecto sobre la calidad de los forrajes y que la aplicación de las actuales normas de alimentación de ganado lechero se basan en la DIP, en este trabajo se determinó el efecto de éstos sobre la DIP.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la edad de corte y de la fertilización nitrogenada sobre la estimación de la digestibilidad intestinal de la proteína del pasto kikuyo utilizando el método *In vitro* de los tres pasos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se llevó a cabo en el Centro Agropecuario Paysandú de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, localizado en el corregimiento de Santa Elena (Antioquia), entre los meses de junio a septiembre de 2003, correspondiente a la época de verano. El Centro se encuentra ubicado a 2.400 msnm, con una temperatura promedio de 14 °C y una humedad relativa promedio de 80% en una formación ecológica de bmh-MB. Se seleccionaron dos potreros sembrados con pasto kikuyo en los que se delimitaron 16 parcelas de 2x3 m cada una, a las cuales se les asignó uno de los siguientes tratamientos (cuatro parcelas/tratamiento): T1 (Parcela no fertilizada y cosechada a los 30 días), T2 (Parcela no fertilizada y cosechada a los 60 días), T3 (Parcela fertilizada con 50 N kg·ha⁻¹ corte y cosechada a los 60 días) y T4 (Parcela fertilizada con 50 N kg·ha⁻¹ corte y cosechada a los 30 días). Las praderas fertilizadas estuvieron ubicadas en un potrero diferente a las no fertilizadas. De ésta manera los tratamientos se organizaron en un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 2x2 (dos edades de corte y dos niveles de fertilización nitrogenada). Las parcelas de los tratamientos T1 y T3 fueron sometidas a cuatro períodos de corte de emparejamiento en tanto que las parcelas T2 y T4 fueron sometidas a dos períodos de corte con su respectiva fertilización entre cortes. Las diferencias en los períodos de corte de emparejamiento son debidas a que el período destinado para el preensayo fue de 4 meses, por lo

tanto T1 y T3 (edad de corte de 30 días) alcanzaron a tener 4 cortes de emparejamiento, mientras que T2 y T4 (edad de corte de 60 días), alcanzaron en éste período sólo dos cortes. La fuente de nitrógeno que se utilizó fue urea con 46% de nitrógeno.

Una vez cumplida la edad de corte se tomaron cinco submuestras al azar de cada parcela que luego se mezclaron homogéneamente para conformar una sola muestra. Estas fueron transportadas bajo refrigeración hasta el laboratorio de nutrición de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, donde se secaron a 65 °C por 48 horas en una estufa de aire forzado. A las muestras de forraje se les determinó previamente el contenido proteína cruda (PC), según los protocolos de análisis aplicados en el laboratorio de bromatología, los cuales siguen los métodos descritos por Van Soest y Robertson (1985).

Cada una de las muestras se sometió a la prueba de digestibilidad intestinal de la proteína utilizando el método *In vitro* de los tres pasos (Calsamiglia y Stern, 1995) con una incubación ruminal previa de 16 horas según lo indica la técnica. Para ello se utilizaron cuatro vacas secas, adultas de la raza Holsteín con cánula ruminal. Se utilizaron 16 bolsas de dacrón por animal (cuatro de cada tratamiento) con un tamaño de poro de 45-50 µm y unas dimensiones de 5,5 x 12,5 cm, las cuales se secaron previamente a 60 °C por 48 horas y luego se pesaron. Las muestras de forraje, se molieron a través de una malla de 2 mm, y luego se empacaron a razón de 3 g de muestra por bolsa y se sellaron con amarras plásticas.

El residuo de ésta degradación ruminal, se incubó luego por una hora en solución de HCl 1N conteniendo 1 g·L⁻¹ de pepsina (Sigma P-7012). Después de la incubación, el pH fue neutralizado con

NaOH 1N, y se adicionó una solución buffer de pH 7,8 conteniendo 3 g·L⁻¹ de pancreatina (Sigma P-7545), posteriormente la mezcla se incubó a 38 °C. Después de 24 horas de incubación, se adicionaron 4,3 mL de una solución de ácido tricloroacético (TCA) 50% (wt/vol) para desnaturalizar la pancreatina y precipitar la proteína no digerida (Stern y Bach, 1997).

El procedimiento inicial propuesto por Calsamiglia y Stern (1995) se aplicó con ciertas modificaciones para poder ser utilizado en forrajes. Estas modificaciones consistieron inicialmente en un proceso de filtrado para obtener el sobrenadante, dado que con el procedimiento original éste se obtenía contaminado con muestras de pasto. Posteriormente, todo el sobrenadante obtenido se sometió a una exhaustiva homogenización antes de determinar su contenido de nitrógeno. Ésta modificación se hace necesaria puesto que cuando se analizan forrajes se obtiene un sobrenadante no homogéneo. Por último, el volumen de sobrenadante tuvo que ser estimado como la sumatoria de los volúmenes individuales de cada uno de los reactivos adicionados a la muestra. Esto fue indispensable, dado que con muestras de forraje es imposible obtener un precipitado lo suficientemente estable que permita el vertimiento completo del sobrenadante, contrario a lo que ocurre con granos y cereales. Realizando las anteriores adaptaciones se logró disminuir progresivamente los coeficientes de variación, hasta obtener los mencionados en los resultados. Adicionalmente, durante todo el proceso de estandarización se utilizó una muestra patrón de torta de soya.

El cálculo del porcentaje de la digestibilidad intestinal (DI) de la proteína se realizó mediante las siguientes ecuaciones:

$$\%DI \text{ de la PNDR}^1 = \frac{(\text{Volumen sobrenadante} \times \% \text{ de } N \text{ soluble})}{(\text{Peso residuo seco post incubación a 16h} \times \% \text{ de } N \text{ en el residuo})} \times 100$$

$$\%DI \text{ de la PC}^2 = \frac{(\text{Volumen sobrenadante} \times \% \text{ de } N \text{ soluble})}{(\text{Peso muestra seca preincubación ruminal a 16h} \times \% \text{ de } N \text{ de ésta})} \times 100$$

Donde:

¹ Proteína no degradable en rumen

² Proteína cruda

El efecto de la fertilización nitrogenada y la edad de corte sobre la digestibilidad intestinal de la proteína se determinaron mediante la prueba de Duncan utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1990).

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los resultados del efecto del nivel de fertilización y la edad de corte sobre la proteína cruda (PC) en el pasto kikuyo. Como se puede apreciar no hubo efecto significativo de los tratamientos sobre el contenido de PC del pasto. Los valores oscilaron entre 17,98% y 20,09% de la MS ($P > 0,05$).

Tabla 1. Contenido de proteína cruda del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst) a dos edades de corte y dos niveles de fertilización nitrogenada.

Fracción química % de la MS	Tratamientos ¹				Media	F	E	p ²	FxE	CME ³
	SF		CF							
	30 d	60 d	30 d	60 d						
PC	18,47	19,60	17,98	20,09	19,04	NS	NS	NS	NS	1,456

¹ SF: sin fertilización; CF: con fertilización; 30 d: corte a 30 días de edad; 60 d: corte a 60 días de edad

² NS: no significativo a $P < 0,05$; **: significativo a $P < 0,05$

³ Cuadrado medio del error

De otro lado, en la Tabla 2 se presenta la degradación de la proteína cruda en el pasto kikuyo a después de 16 horas de incubación ruminal. Como puede observarse, el análisis de varianza indicó que no hubo efecto significativo de los tratamientos sobre la degradabilidad ruminal de la PC del pasto kikuyo.

En cuanto al porcentaje de digestibilidad intestinal de la proteína del pasto kikuyo, éste fue afectado por el nivel de fertilización pero no por la edad de corte ($P < 0,05$) (Tabla 3) obteniéndose el valor más alto con el pasto no fertilizado.

Tabla 2. Degradabilidad ruminal de la proteína cruda del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst) a dos niveles de fertilización nitrogenada y dos edades de corte.

Fracción química % de la MS	Tratamientos ¹				F	E	p ²	FxE	CME ³
	SF		CF						
	30 d	60 d	30 d	60 d					
% deg PC(16h)	52,921	50,983	52,664	50,100	NS	NS	NS	NS	13,20
Kd ⁴	0,0395	0,0501	0,0485	0,0365	NS	NS	NS	NS	0,0002

¹ SF: sin fertilización; CF: con fertilización; 30 d: corte a 30 días de edad; 60 d: corte a 60 días de edad.

² NS: no significativo a $P < 0,05$;

³ Cuadrado medio del error.

⁴ Tasa de degradación ruminal de la proteína.

Tabla 3. Digestibilidad intestinal de la proteína cruda (DIPC) y de la proteína no degradable en rumen (DIPNDR) del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst), sometido a dos niveles de fertilización nitrogenada y dos edades de corte

	Tratamientos ¹				Media	p^2			
	SF		CF			F	E	FxE	CME ³
	30 d	60 d	30 d	60 d					
% DIPNDR ⁴	52,51	56,14	43,38	45,40	49,36	**	NS	NS	26,50
% DIPC	24,83	27,68	20,53	22,58	23,90	**	NS	NS	12,84
CV ⁴ de la DIPC (%)	16,13	19,25	6,763	9,87					

¹ SF: sin fertilización; CF: con fertilización; 30 d: corte a 30 días de edad; 60 d: corte a 60 días de edad.

² NS: no significativo a $P < 0,05$; **: significativo a $P < 0,05$.

³ Cuadrado medio del error.

⁴ Coeficiente de variación

DISCUSIÓN

Como se puede observar en la Tabla 1, no hubo efecto de la edad de corte ni de la fertilización nitrogenada sobre el porcentaje de proteína cruda del pasto kikuyo. Lo anterior pudo ser debido al efecto combinado de la fertilización residual y a características propias de este pasto (Gil y Quirós, 1999, Monsalve, 2004, Carmona y Martínez, 1988). Se afirma que el pasto kikuyo difiere en su comportamiento de la mayoría de los pastos tropicales, ya que su composición química no se afecta tan drásticamente a medida que aumenta su edad de corte. Es posible, que en este trabajo la edad de corte no tuvo efecto sobre el contenido de proteína cruda del pasto kikuyo, debido a que éste forma estolones con entrenudos cortos, de tal manera que lo que queda al acceso de los animales y del investigador son principalmente hojas y no tallos, siendo estos últimos los que realizan el proceso de lignificación, principalmente; lo que impide que la composición química del material a ser cosechado (por el animal o el hombre) no se modifique significativamente a medida que aumenta la edad de corte (Zapata, 2000).

En cuanto al efecto de la fertilización residual, éste pudo ser de gran magnitud en el presente trabajo dado que las parcelas utilizadas han sido fertilizadas con abonos compuestos durante décadas. Sin embargo, Minson (1990), citado por Carulla (1999), afirma que la fertilización nitrogenada produce un incremento en la proteína cruda del forraje, pero este mismo autor advierte que el aumento en la concentración de proteína cruda depende de varios factores como la cantidad de N aplicado, el tipo de

fertilizante, las características del suelo y el tiempo entre la fertilización y la cosecha del forraje. Aunque en este trabajo las parcelas se sometieron a un periodo previo de cuatro meses bajo las condiciones de los tratamientos, es probable que éste periodo haya sido corto, teniendo en cuenta el efecto de décadas con altos niveles de fertilización. Otros investigadores encontraron efecto de la fertilización nitrogenada sobre la proteína cruda del pasto kikuyo; es así como Soto y Laredo (1980) observaron un incremento significativo en el porcentaje de proteína cruda del pasto kikuyo cuando éste se fertilizó con 50 de N $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$.

Aunque en este trabajo la fertilización nitrogenada tampoco afectó la cinética de la degradación ruminal de la PC del pasto kikuyo; muchos autores han informado que la fertilización nitrogenada mejora el contenido de proteína del forraje (9; 22; 15) debido principalmente al incremento en el N soluble y el NNP, es decir, en la fracción *a* (soluble), en detrimento de la fracción *b* (potencialmente degradable) (Rodríguez, 1999).

La fracción *c* (no degradable) no parece modificarse por la fertilización nitrogenada (Rodríguez, 1999) o puede manifestar un incremento (Messman, Weiss y Erickson, 1992).

En cuanto a la constante de la tasa de degradación ruminal de la proteína (*K_d*), en un trabajo alterno realizado con los mismos tratamientos empleados aquí, Soto y Valencia (2004) no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. El valor promedio para la constante *k_d* hallada en este experimento (0,043/h) fue más alta

que la obtenida por Bernal y Montoya (2004) (0,031/h) y por Agudelo y Restrepo (2001) (0,032/h) pero más baja que la anunciada por Pabón y Gaitán (2002) (0,0783/h) y por Correa y Marín (2002) (0,0668/h).

Como pudo observarse en la Tabla 3, hubo efecto de la fertilización nitrogenada sobre la digestibilidad intestinal de la proteína, pero ésta no se afectó significativamente con la edad de corte. Dado que en el presente trabajo ni la edad de corte ni la fertilización tuvieron efecto sobre la degradación ruminal de la proteína, se asume que las diferencias encontradas respecto a la digestibilidad intestinal de ésta es un evento independiente de lo ocurrido en el rumen.

Carulla (1999), sustenta que los forrajes aportan proteína degradable para síntesis de proteína microbiana y proteína de paso, pero en general los pastos kikuyo y ryegrass son bajos en proteína pasante (20%) y altos en proteína degradable (80%). Adicionalmente parte de la proteína de paso no está disponible para la absorción, pues se encuentra ligada a la fibra insoluble en detergente ácido (NIDA). Sin embargo, en un trabajo paralelo realizado por Soto y Valencia (2004) sobre las mismas muestras, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a los valores de NIDA, resultados que no concuerdan con las diferencias observadas en la digestión intestinal de la proteína.

Los resultados encontrados en el presente trabajo en cuanto a composición y digestibilidad intestinal de la proteína no coinciden con los de Steg *et al.* (1994), quienes afirman que la proteína cruda no digestible a lo largo del tracto intestinal, puede ser predicha a partir de la composición química y la edad de corte.

De igual modo Monsalve (2004), evaluó en estas mismas muestras, la digestibilidad intestinal de la proteína por el método de las bolsas móviles de nylon, encontrando que ésta no se afectó significativamente ni con la edad de corte ni con el nivel de fertilización. El valor promedio hallado fue de 58,57% con un coeficiente de variación entre tratamientos de 10%. Estos resultados no coinciden con los encontrados con el método *In vitro* de los tres pasos, los cuales tuvieron un valor promedio de 49,36% y un coeficiente de variación de 17,65% entre tratamientos. El análisis de los coeficientes de

variación puede explicar por qué con el método *In vitro* de los tres pasos se obtuvieron diferencias significativas, ya que aparentemente hizo una discriminación más fina de la población de muestras; lo anterior se hace evidente cuando se observan los coeficientes de variación intra ensayo para los tratamientos fertilizados, el cual fue de 9,87% para el pasto cosechado a los 60 días y 6,76% para el cosechado a los 30 días, valores más bajos a los expresados por Monsalve (2004) para el total de muestras.

Las diferencias observadas entre los resultados obtenidos por el método *In vitro* de los tres pasos y el método de las bolsas móviles de nylon pueden radicar en la fase metodológica donde se determina la digestión ácido-enzimática, dado que en el primero las condiciones de pH, temperatura, cantidad de enzima y tiempos son controlados, mientras que en el segundo las mismas condiciones varían acorde con situaciones propias del animal y de su medio y por lo tanto, imprimen un sesgo incontrolado en su utilización.

La razón por la cual las parcelas no fertilizadas presentaron significativamente mayor porcentaje de digestibilidad intestinal de la PC no pudo esclarecerse a partir de la fisiología vegetal. En cuanto a la fase metodológica de degradación ruminal de la proteína, una de las posibles explicaciones a los resultados expuestos podría radicar en el tiempo de incubación de 16 horas.

Dado que el tiempo medio de retención en el rumen es superior a 16 horas, podría realizarse una valoración incompleta de la digestibilidad intestinal, es así como Parker (2003), afirma que en los rumiantes el grado de digestibilidad intestinal del N depende del tiempo de incubación del alimento en el rumen; tiempos de incubación más largos inducen a una mayor degradabilidad del N y disminuyen la digestibilidad intestinal del N no degradable. Por su parte Hvelplund, Weisbjerg y Soegaard (1999) confirman que las diferencias en la proteína cruda no digestible a lo largo del tracto digestivo (rumen e intestino) medidas por la técnica de las bolsas móviles se incrementan cuando el tiempo de incubación ruminal se aumenta y son más grandes para forrajes que para concentrados. Según este postulado, si el presente trabajo hubiera utilizado tiempos de incubación ruminal más largos, las

diferencias entre tratamientos deberían aumentar y confirmar las diferencias observadas.

Dado que el método *In vitro* de los tres pasos es un método diseñado para aplicarse a recursos no fibrosos, es necesario evaluar como las principales variables en la aplicación del método, influyen en la valoración adecuada de la digestibilidad intestinal de la PC de forrajes.

La principal recomendación de esta investigación, es que cuando se someta un forraje a la técnica *In vitro* de los tres pasos, primero se debe hacer un estudio completo sobre la cinética ruminal, pues así se tendría mayor información para el análisis de los resultados y para la aplicación de ésta.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado como parte del proyecto "Caracterización del metabolismo del nitrógeno en vacas lactantes en un hato lechero del Oriente Antioqueño" financiado por la Dirección de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín (código DIME: 030803684).

BIBLIOGRAFÍA

Agudelo, J.M. y C.A. Restrepo. 2001. Efecto de la utilización de la Acacia Negra (*A. decurrens*) sobre los niveles de producción y el contenido proteico de la leche en vacas de alto rendimiento. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 135 p.

Bernal, L.C. y S. Montoya. 2004. Balance energético y proteico en vacas al inicio de la lactancia y su relación con el estado metabólico. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 75 p.

Calsamiglia, S. and M.D. Stern. 1995. A three- step *In vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. J. Animal Sci. 73: 1459-1465.

Carmona, M. y M. Martínez. 1988. Potencial forrajero del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) para producción de leche. Seminario de grado de

Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 111 p.

Carulla, J. 1999. Efectos de la fertilización nitrogenada sobre la proteína del forraje. p. 57-63. En: Memorias. Simposio Internacional sobre la Proteína de la Leche. Colanta. Medellín, Colombia.

Correa, L.F. y M.R. Marín. 2002. Balance energético y proteico en vacas periparturientas y su relación con su estado metabólico. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín. 50 p.

Gil, M. y S. Quirós. 1999. Cuantificación de AGV y pH en el líquido ruminal de tres razas de bovinos (BON, Holstein y Cebú) alimentados con dos calidades de forraje. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 86 p.

Hvelplund, T., M.R. Weisbjerg and K. Soegaard. 1999. Use of *In vitro* digestibility methods to estimate *In vivo* digestibility of straws. pp. 70-78. In: Proceedings of the Tanzania Society of Animal Production Conference. Arusha, Tanzania.

Messman, M.A., W.P. Weiss and D.O. Erickson. 1992. Effects of nitrogen fertilization and maturity of bromegrass on nitrogen and amino acids utilization by cows. J. Animal. Sci 70: 566.

Minson, D.J. 1990. Forage in ruminant nutrition. In: Biology and Agronomy of Forage Arachis. Ed: Kerridge, P.C. Chapter 10: 109-121.

Monsalve, F. 2004. Comparación de dos métodos para estimar la digestibilidad intestinal de la proteína cruda del pasto kikuyo. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 68 p.

Naranjo, H. 2002. Evaluación nutricional del pasto kikuyo a diferentes edades de corte. Despertar Lechero 20:150-167.

National Research Council. 2001. The Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised edition. National Academy Press, Washington D.C. 408 p.

- Pabón D. y S. Gaitán. 2002. Aplicación del modelo NRC 2001 en la caracterización energética y proteica de los pastos kikuyo (*Pennisetum clandestinum*. Hochst), ryegras (*Lolium perenne*) y falsa poa (*Holcus lanatus* L) en un hato lechero del oriente Antioqueño. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín.
- Parker, D.S. 2003. Nutrición con aminoácidos en ganadería de carne. En: http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?art=272&AREA=GDC. Consulta: noviembre de 2007.
- Rodríguez, D. 1999. Caracterización de la respuesta a la fertilización en producción y calidad forrajera en los valles de Chiquinquirá y Simijaca (Estudio del caso). Trabajo de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 56 p.
- Statistical Analysis Software, SAS Inst (US). 1990. SAS User's Guide: Statistics (Versión 6 Ed). NC. USA. SAS Institute. Cary.
- Soto, L., M.A. Laredo y E. Alarcon. 1980. Digestibilidad y consumo voluntario del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst) en ovinos bajo fertilización nitrogenada. Revista ICA 15: 79-90.
- Soto, C. y A. Valencia. 2004. Efecto de la edad de corte y del nivel de fertilización nitrogenada sobre la valoración nutricional y la degradación de la proteína del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochts). Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 26 p.
- Steg, A., W.M. Van Straalen, V.A. Hindle, W.A. Wensink, F.M.H. Dooper and R.L.M. Schils. 1994. Rumen degradation and intestinal digestion of grass and clover at two maturity levels during the season in dairy cows. Grass and Forage Sci 49(4): 378-390.
- Stern, M.D., A. Bach and S. Calsamiglia. 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. J. Anim. Sci. 75: 2256-2276.
- Van Soest, P.J. and J.B. Robertson. 1985. Analysis of forrage and fibrous foods. A laboratory manual for animal science. Cornell University. 503 p.
- Van Vuuren, A.M., A. Tamminga and R.S. Ketelaara. 1991. In sacco degradation of organic matter and crude protein of fresh grass (*Lolium perenne*) in the rumen of grazing dairy cows. J. Agric. Sci. 116 (3): 429-436.
- Zapata, F. 2000. Kikuyo. Especies Forrajeras Versión 1.0. Agrosoft Ltda. Colombia. 18 p.