
In Vitro Evaluation of Three Ammoniated Agricultural Residues for Feeding Ruminants

León Montenegro-Vivas
Italo Espinoza-Guerra, Adolfo Sánchez-Laiño
Orly Cevallos Fálquez
Roque Vivas-Moreira
Jhon Montenegro Holguín

¹ Facultad de Ciencias Pecuarias. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Av. Walter Andrade. Km 1 ½ vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, C.P. 73. Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

Abstract: *The aim of this study was to compare the two techniques laboratory using three preserved agricultural residues (henificados, amonificados and silage). The data analysis was done through the establishment of the regression equations interpreted the relationship between the two variables (Y; digestibility in vivo, X, in vitro digestibility), the values obtained in vivo for each product were taken and mated with their respective average digestibility in vitro product of three replicates. The rumen fluid-pepsin technique was more accurate when compared with the technique of rumen liquor-pepsin, introducing a more stable model. However it was less accurate in view of more distanced from the real value (in vivo), and coefficient of determination (R²) was slightly higher compared to the technique of rumen fluid. Pepsin-cellulase technique showed higher absolute values with respect to the in vivo digestibility. Pepsin-cellulase technique seems to be more sensitive to the variation of forage species, and commercially available cellulases vary considerably in their digestive capacity. The biggest advantage for pepsin technique cellulase in their execution is to obviate the need for cannulated animals and all that that implies, however Tilley and Terry technique presents a higher coefficient of determination, ie, more accuracy with respect to vivo values. Consider the in vitro digestibility as a valid method for estimating the in vivo digestibility in ruminant feed, to be more accurate, fast and economic.*

Key Words: Food, digestibility, forages

Valoración *in vitro* de tres residuos agrícolas amonificados para alimentación de rumiantes

Resumen: *El objetivo del presente trabajo fue comparar dos técnicas de laboratorio, utilizando tres residuos agrícolas. El análisis de la información se realizó a través del establecimiento de las ecuaciones de regresión que interpretaron la relación entre dos variables (Y; digestibilidad in vivo, X; digestibilidad in vitro), se tomaron valores obtenidos por cada subproducto in vivo y se aparearon con su respectivo promedio de digestibilidad in vitro producto de tres repeticiones. La técnica líquido ruminal-pepsina fue más precisa al compararla con la técnica del licor ruminal-pepsina, al presentar un modelo más estable. Sin embargo fue menos exacta en vista de que se distancio más del valor real (in vivo), y su coeficiente de determinación (R²), fue ligeramente superior con respecto a la técnica del licor ruminal. La técnica pepsina-celulasa presentó valores absolutos superiores con respecto a la digestibilidad in vivo. La técnica pepsina-celulasa parece ser más sensible a la variación de las especies forrajeras, además las celulasas comercialmente disponibles varían considerablemente en su capacidad digestiva. La mayor*

ventaja para la técnica pepsina celulasa en cuanto a su ejecución es obviar la necesidad de utilizar animales canulados y todo lo que ello implica, sin embargo la técnica Tilley y Terry presento un mayor coeficiente de determinación, es decir, más exactitud con respecto a los valores in vivo. Se considera a la digestibilidad in vitro como un método valido para estimar la digestibilidad in vivo en alimentos para rumiantes, por ser más precisas, rápidas y económicas.

Palabras Chave: *Alimento, digestibilidad, forrajes*

1. Introducción

Todo proceso agrícola genera, durante el desarrollo del cultivo y en la cosecha, residuos o desechos vegetales que se destinan para diferentes usos (Toledo *et al* 2014). Los subproductos agroindustriales son productos obtenidos durante la cosecha y/o procesamiento de alimentos o fibras indispensables para llenar necesidades básicas en humanos, pero, por sus características nutricionales y disponibilidad a bajo costo, en la mayoría de las ocasiones, se constituyen en un recurso importante como fuente de alimento para animales (Cuesta y Conde 2002). Con respecto a los residuos sólidos, producidos en terrenos de cultivo, están los que quedan después de la cosecha de granos o leguminosas como arroz, maíz, trigo y frijol (Quintero y Moncada 2008).

Los residuos de cosecha amonificados tienen potencial en la alimentación de rumiantes, la momificación del residuo de cosecha del cultivo de *Zea mays* es una alternativa de alimentación de rumiantes que puede ser considerada por los productores especialmente en épocas críticas (Saavedra *et al* 2013). La digestibilidad de los pastos, es un indicador importante de su calidad ya que ofrece una muy buena aproximación de la fracción del pasto que es retenida en el tracto gastrointestinal del animal. Las técnicas licor ruminal- pepsina y pepsina celulasa son algunos de los métodos in vitro de mayor utilización en los laboratorios para estimar la digestibilidad in vivo de los forrajes (Ruiz 2011).

La mayoría de los métodos de evaluación de forrajes tienen como objetivo la determinación del valor nutricional de los forrajes, mediante la técnica de digestibilidad in vitro descrita por (Tilley y Terry 1963). El desempeño productivo de los rumiantes está en función del valor nutricional de la dieta que consumen. La evaluación del valor nutricional puede realizarse por métodos in vivo, *in situ* e *in vitro* (Posada y Noguera 2005). El método de digestibilidad enzimática es un procedimiento simple de desarrollar y más rápido que el método in vitro para predecir la digestibilidad in vivo de la materia seca de los forrajes y además existe una alta correlación entre el método enzimático y el método in vitro por lo que se recomienda el uso del método enzimático como una alternativa en el laboratorio para la evaluación de la digestibilidad de los forrajes (Arce *et al* 2003).

El desempeño productivo de los rumiantes está en función del valor nutricional de la dieta que consumen. La evaluación del valor nutricional puede realizarse por métodos in vivo, *in situ* e *in vitro* (Posada y Noguera 2005). La presente investigación pretende comparar la precisión y exactitud de las dos técnicas in vitro (liquido ruminal-pepsina y pepsina celulasa), para estimar la digestibilidad in vivo, utilizando para ello tres subproductos agrícolas conservados (henificados, amonificados y ensilados).

2. Materiales y Metodos

La investigación se realizó en la Finca Experimental “La María”, Universidad Técnica estatal de Quevedo, localizada en el km 7,0 de la vía Quevedo-Mocache, provincia de Los Ríos. Su ubicación geográfica es de 01° 6’ 20’’ de latitud Sur y de 79° 29’ 23’’ de longitud Oeste, a una altura de 73 msnm. Los análisis de laboratorio fueron realizados en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), ubicada en la Panamericana Sur, km. 1,5 de la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, a una altitud de 2740 msnm, 01°38’ de latitud Sur y 78°40’ de longitud oeste.

Se utilizaron tres residuos agrícolas (arroz, maíz y soya), bajo tres métodos de conservación Henificación, amonificación y ensilajes, fueron secados y molido para la pruebas in vitro y de laboratorio. Los residuos agrícolas fueron evaluados y su respectivo análisis proximal de acuerdo a la AOAC (1990), la fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD), se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición química bromatológica de subproductos agrícolas henificados, amonificados y ensilados. Fca. Exp. “La María”. FCP-UTEQ.

Componentes	Técnicas de conservación								
	Henificación			Amonificación			Ensilaje		
	Arroz	Maíz	Soya	Arroz	Maíz	Soya	Arroz	Maíz	Soya
Humedad (%)	8,18	7,91	12,73	44,93	43,43	43,87	35,81	34,82	37,02
Materia seca (%)	91,81	92,1	87,27	55,07	56,57	56,13	64,19	65,18	62,98
Proteína cruda (%)	5,87	5,02	6,37	8,21	8,36	8,8	10,31	9,42	8,91
Extracto etéreo (%)	1,78	1,27	1,75	2,12	2,14	2,62	1,81	1,08	2,66
Fibra bruta (%)	38,84	40,50	51,29	34,73	39,23	56,31	31,3	37,71	58,52
Cenizas (%)	21,06	8,84	8,00	22,57	12,89	10,66	21,57	12,1	8,25
Materia orgánica (%)	78,94	91,16	92,00	77,43	87,11	89,34	78,43	87,9	91,75
ELN (%)	24,26	36,46	19,85	32,37	37,37	21,61	35,01	39,68	21,66
FDA (%)	56,01	55,06	62,16	57,09	54,95	68,62	51,57	52,32	60,69
LDA (%)	4,49	7,73	12,42	7,19	9,97	20,48	6,55	10,43	16,79

*Fuente: Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos INIAP, Santa Catalina. Quito – Ecuador. 2017

Se utilizaron cuatro toros Brahaman, machos castrados, cada uno tenía una cánula al rumen, para permitir la extracción del líquido ruminal. A continuación se describen de manera general los procedimientos de las técnicas in vitro que fueron evaluadas.

Cuadro 2. Resumen del procedimiento en laboratorio para las dos técnicas.

Licor ruminal - pepsina	Pepsina - celulasa
Pesar 0,5 de la muestra	Pesar 0,5 de la muestra
Adicionar saliva artificial 40 ml y licor ruminal 10 ml.	Adicionar 20 ml de solución pepsina al 0,2% en HCl 0,1N.
Incubar 48 horas a 39°C a baño maría por agitación.	Incubar por 24 horas a 40°C a baño maría por agitación.
Adicionar 6 ml de HCl, luego 2 ml de solución pepsina al 5%.	Filtrar solución sobrenadante y adicionar 20 ml de solución celulasa en medio buffer
Incubar durante 48 horas a 39°C a baño maría con agitación.	Incubar durante 48 horas a 40°C a baño maría con agitación
Incubar durante 48 horas a 39°C a baño maría con agitación.	Filtrar el contenido en crisol secado y tarado previamente.
Filtrar el contenido en crisol secado y tarado previamente	Filtrar el contenido en crisol secado y tarado previamente
Secar en estufa a 105°C por 12 horas dando por finalizada la DIVMS.	Secar en estufa a 105°C por 12 horas dando por finalizada la DIVMS.
Cálculos.	Cálculos.

Este procedimiento es tomado de la técnica “*Tilley y Terry, 1963*” e involucra primeramente un periodo de incubación de 48 horas con microorganismos del rumen en un medio buffer y en segundo término, la digestión con una mezcla de ácido clorhídrico - pepsina. Las cantidades de materia seca (MS) o materia orgánica (MO) que desaparecen después de ambas etapas, se consideran como “*digeridas*” (Guevara, 2008).

En la técnica de digestibilidad *in vitro* con fluido ruminal, se dispuso de un diseño bloques completamente al azar (*DBCA*) en un arreglo factorial 3 (Residuos de cosecha) x 3 (Técnicas de conservación), con cuatro repeticiones, Los datos se analizaron utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1999) y las diferencias de medias se compararon usando la Prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Se efectuó la primera fase de la técnica de (Tilley y Terry 1963) para cuantificar la desaparición ruminal *in vitro* de MO de los residuos de cosecha de maíz, arroz y soya (henificados, amonificados y ensilados), para lo cual se colectó fluido ruminal de un toro brahman con canula ruminal y alimentado *ad libitum* con pasto saboya y balanceado. Las muestras de residuos se colocaron en tubos de polipropileno y se incubaron con la mezcla de saliva de McDougall + fluido ruminal en relación (4:1) durante 48 horas a temperaturas y pH similares a los del rumen (39°C y 6.8 respectivamente). Este sistema de digestibilidad *in vitro* se basa en la primera etapa en una fermentación en un sistema cerrado, es decir, los productos de la fermentación no son removidos, en la primera etapa se adiciona una solución amortiguadora con el fin de mantener el pH en alrededor de 6.9, para que actúen las bacterias ruminales, especialmente las celulolíticas. En la segunda etapa de esta técnica se lleva a cabo una digestión con pepsina en medio ácido, añadiendo HCl. Esta etapa es comparativa a lo que sucede en el abomaso (Castellanos, *et al.*, 1990).

3. Resultados Y Discusion

En el Cuadro 2, se presentan los resultados expresados como porcentaje de materia seca (MS) para la digestibilidad *in vivo*, y para cada una de las técnicas evaluadas.

Cuadro 2. Valores de digestibilidad de la materia seca (%), *in vivo*, líquido ruminal-pepsina y pepsina-celulasa, para tres subproductos tropicales conservados (henificados, amonificados y ensilados). Fca. Exp. "La María". FCP-UTEQ

Subproductos conservados	Determinación de la digestibilidad		
	<i>In vivo</i>	Líquido ruminal-pepsina	Pepsina-celulasa
Henificados			
✓ Arroz	24,90	43,68	42,03
✓ Maíz	35,79	36,23	56,08
✓ Soya	28,28	53,09	31,29
Promedio	29,66	44,60	43,13
Amonificados			
✓ Arroz	28,91	71,57	44,65
✓ Maíz	35,22	71,86	49,36
✓ Soya	33,11	67,82	56,25
Promedio	32,41	70,42	50,09
Ensilados			
✓ Arroz	27,09	63,48	60,87
✓ Maíz	32,49	62,18	54,62
✓ Soya	26,05	58,12	56,25
Promedio	28,54	61,26	57,25

Los valores absolutos entre la técnica *in vivo* (30,20%) son diferentes a los obtenidos con las técnicas líquido ruminal-pepsina (58,76%) y pepsina-celulasa (50,16%), presentándose una diferencia de 24,26 unidades aproximadamente con respecto a la técnica *in vivo*.

Estos valores de digestibilidad *in vivo* son inferiores a los reportados por (Zambrano 2011) que encontró valores entre 39,75 y 43,47% para las pancas de arroz, maíz y soya. Así como también la DIVMS 43,3 % por (Saavedra *et al* 2013) 43.3%, pero también son inferiores a las técnicas son menores a las técnicas líquido ruminal-pepsina y pepsina-celulasa. La técnica líquido ruminal-pepsina, presento un modelo distinto para cada corrida, lo que indicaría una alta variabilidad en la técnica.

La técnica pepsina-celulasa fue más precisa al compararla con la técnica del licor ruminal-pepsina, al presentar un modelo más estable. Sin embargo fue menos exacta en vista de que se distancio más del valor real (*in vivo*), y su coeficiente de determinación (R²), fue menor con respecto a la técnica del licor ruminal. La técnica pepsina-celulasa presentó bajos valores absolutos con respecto a la digestibilidad *in vivo*. Se recomienda aplicar la ecuación de regresión correspondiente cuando se utiliza esta técnica. La mayor ventaja para la técnica pepsina celulasa en cuanto a su ejecución es obviar la necesidad de utilizar animales canulados y todo lo que ello implica, sin embargo la técnica (Tilley y Terry 1963) presentó un mayor coeficiente de determinación en ambas corridas, es decir más exactitud con respecto a los valores *in vivo*, por lo cual de acuerdo a estos resultados se puede seguir considerando como un método válido para estimar la digestibilidad *in vitro* en alimentos para animales rumiantes.

En el Cuadro 3, se presentan las ecuaciones de regresión obtenidas para las dos técnicas de digestibilidad *in vitro* frente a la digestibilidad *in vivo*.

Cuadro 3. Ecuaciones de regresión simple entre digestibilidad *in vitro* (x) e *in vivo* (y) para tres subproductos tropicales conservados (henificados, amonificados y ensilados) por medio de dos técnicas *in vitro*. Fca. Exp. “La María”. UICYT-FCP-UTEQ

Método	Sub. Prod. Cons.	Ecuación	R ² (%)
<i>Líquido ruminal-pepsina</i>	Henificados.	$Y = -18,68 + 62,45X - 12,49X^2$	99,79
	Amonificado s.	$Y = 53,00 + 17,77X + 6,80X^2$	99,85
	Ensilados.	$Y = 74,77 - 24,68X + 5,99X^2$	98,32
<i>Pepsina-celulasa</i>	Henificados.	$Y = 16,44 + 48,02X - 11,37X^2$	85,58
	Amonificado s.	$Y = -20,19 + 81,85X - 17,99X^2$	98,93
	Ensilados.	$Y = -44,70 + 103,58X - 22,65X^2$	99,29

R²: Coeficiente de determinación.

D.S: Desviación estándar.

De acuerdo al Cuadro 3, los coeficiente de determinación (R²), para las ecuaciones 1; 2 y 3 (técnica líquido ruminal-pepsina), indican que el 99,79; 99,85 y el 98,32% de la variación total de la digestibilidad *in vivo* esta explicada por el modelo; el resto, o sea el 0,21; 0,15 y 0,28% es la variación no explicada por la regresión.

En el caso de las ecuaciones 4; 5 y 6, los R² indican que el 85,58; 98,93 y 99,29% de la variación total de la digestibilidad *in vivo* esta explicada por el modelo, el 0,42; 0,07 y el 0,71% es la variación no

explicada por la regresión. El intercepto presenta valores muy diferentes para las dos técnicas, al compararlos por medio de la ANAVA, se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$). Sin embargo debe tenerse en cuenta que el intercepto no siempre tiene una interpretación práctica y algunas veces es solo un término de ajuste que permite representar la tendencia de los datos.

El coeficiente de regresión en este caso para las seis ecuaciones muestra valores cercanos a uno (1). El mayor R^2 de la primera ecuación, además del bajo valor de la desviación estándar, obtenidos en el presente trabajo para la técnica del líquido ruminal pepsina con respecto a la técnica pepsina-celulasa, coincide con los reportes de trabajos realizados para forrajes de zona templada por (Terry *et al* 1978), Cerda *et al* (1989), Terramoccia *et al* (1989), también Alluzio *et al* y Antongiovanni *et al* citados por Antongiovanni y Acciaoli (1995) citados por Ruiz 2011

(Arce *et al* 2013) manifiesta que encontraron resultados de digestibilidad obtenidos por los métodos enzimático 72,18 en alfalfa fueron superiores a los reportados en este trabajo. Sin embargo, este hallazgo podría atribuirse, por un lado, a la riqueza del inóculo ruminal, donde actúan todo un conjunto de enzimas provenientes de los diferentes microorganismos (bacterias, protozoarios y hongos) que causan una mayor degradación de los forrajes, mientras que el método enzimático trabaja solo con celulasa proveniente de un hongo, por lo que afirma que el método de digestibilidad enzimática demostró ser un procedimiento de laboratorio simple y rápido para la evaluación de los forrajes.

(Campos *et al* 2008) obtuvieron valores entre 57,01 y 64,66% por actividades celulolíticas de diferentes cultivos fúngicos y porcentaje de desaparición de materia seca en sustratos ricos en fibra en ensayo ruminal *in vitro* y sus coeficientes de correlación valores similares a los reportados en esta investigación. Lo cual puede ser porque los cultivos fúngicos influyen en forma positiva la desaparición de la materia seca en los ensayos ruminales *in vitro*. El efecto no se puede atribuir solamente a los perfiles enzimáticos. El incremento en degradabilidad de los sustratos depende más de su naturaleza que al tipo de cultivo fúngico adicionado. Los cultivos del género *Aspergillus* tuvieron por lo general los mejores resultados.

El método de (Tilley y Terry 1963) se considera un método referente para calcular la digestibilidad en alimentos para rumiantes, el cual ha sido modificado y adaptado según el tipo de alimento a analizar, al igual que se han desarrollado y probado diferentes tampones de dilución para ajustar el pH del inóculo, Giraldo *et al* (2007). Citado por Ruiz 2011. Trabajando con dos forrajes diferentes como fuente de inóculo García y Sánchez (1988), concluyeron que la digestibilidad con licor ruminal, parece no estar afectada por la fuente del inóculo, siempre y cuando no existan grandes diferencias en la composición química entre ellos.

Pese a su exactitud, según Giraldo (2007), y a todas las modificaciones y adaptaciones el método (Tilley y Terry 1963) sigue siendo un procedimiento que consume mucho tiempo y trabajo, además cada alimento debe incubarse por separado, limitando el número de muestras a ser analizadas por corrida o tanda. Además es posible estimar la degradabilidad ruminal *in situ* verdadera con base en datos obtenidos *in vitro*.

La fermentación *in vitro* de los forrajes mediante un inóculo de microorganismos ruminales presenta probablemente el mejor cálculo hecho en laboratorio sobre la digestibilidad *in vivo*. Sin embargo, los

ensayos *in vitro* requieren una fuente uniforme y confiable de inóculo ruminal que a menudo es difícil de obtener. Los problemas que mayormente se presentan son: la variación en la actividad del fluido ruminal, variaciones incontrolables que se dan dentro del laboratorio y entre laboratorios, y la disponibilidad de animales ruminalmente canulados. (Arce 2003).

Después de examinar la repetibilidad de los resultados obtenidos en un laboratorio y de la reproducibilidad de resultados logrados entre diferentes laboratorios, Antongiovanni y Acciacioli (1995), sugieren que dentro de los métodos *in vitro*, la técnica enzimática empleada por (Jones y Hayward 1975) es la alternativa más válida a los análisis clásicos de (Tilley y Terry 1963). Finalmente en pastos tropicales, varios autores también han encontrado una mayor precisión de la técnica pepsina-celulasa, para predecir la digestibilidad de la materia seca *in vivo*, es el caso de Adegbola y Paladines (1977), Peña y Paladines (1979), Narváez y Lazcano (1989) y Navaretne (1990) citados por Ruiz 2011.

4. Conclusiones

La técnica líquido ruminal-pepsina fue más precisa al compararla con la técnica del licor ruminal-pepsina, al presentar un modelo más estable. Sin embargo fue menos exacta en vista de que se distanció más del valor real (*in vivo*), y su coeficiente de determinación (R^2), fue ligeramente superior con respecto a la técnica del licor ruminal. La técnica pepsina-celulasa presentó valores absolutos superiores con respecto a la digestibilidad *in vivo*. La técnica pepsina-celulasa parece ser más sensible a la variación de las especies forrajeras, además las celulasas comercialmente disponibles varían considerablemente en su capacidad digestiva. La mayor ventaja para la técnica pepsina celulasa en cuanto a su ejecución es obviar la necesidad de utilizar animales canulados y todo lo que ello implica, sin embargo la técnica Tilley y Terry presentó un mayor coeficiente de determinación, es decir, más exactitud con respecto a los valores *in vivo*. Considerar a la digestibilidad *in vitro* como un método válido para estimar la digestibilidad *in vivo* en alimentos para rumiantes, por ser más precisas, rápidas y económicas.

Agradecimiento

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo por su financiamiento a través del Fondo Competitivo de Investigación Ciencia y Tecnología (FOCICYT) en el Proyecto: Caracterización de ensilajes de pastos tropicales con niveles de inclusión de residuos agrícolas y agroindustriales de uso alimenticio en rumiantes

5. Referencias Bibliográficas

- AOAC. (1990). Official Methods of Analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA. 1990.
- Arce, C., Arbaiza, T., Carceleén, F. y Luca, O. 2003. Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. Revista investigación Veterinaria Perú. 2003; 14 (1) p 7 – 12.
- Adegbola A., Paladines O. 1977. Prediction of digestibility on the dry matter of tropical forages from their solubility in fungal cellulase solutions. *Journal of the science of food and agriculture*. 28 (1): 775-785.

- Antongiovanni M., Acciatoli A. 1995. Accuracy of estimates of *in vivo* digestibility values by means of *in vitro* laboratory techniques. *Zootécnica e nutrição animal*. 21(1995): 47-50.
- Arce C, et al. 2003. Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 14 (1): 7-12.
- Campos R., Pimentel, D., Hernández, A., Fuentes A., Alfaro, R., Rodríguez R. y Viniegra G. 2008. Influencia de cultivos fungicos en ensayos ruminales *in vitro* de diferentes sustratos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* Vol. 7, No. 3 p.215-221.
- Castellanos, A.; Llamas, G., y Shimada, A. 1990. Manual de Técnicas de investigación en Rumiología. México, 267 p.
- Cuesta, A. y Conde, A. 2002. Potencial de subproductos agroindustriales y su mejoramiento a través de tratamientos químicos. *Revista de Divulgación Técnica y Científica de Zootecnia Año 1 Volumen 1*
- García G., Sánchez D. 1985. Utilización de dos forrajes como Fuentes de inóculo en una prueba de digestibilidad *in vitro*. Medellín. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. p 65.
- Giraldo L, et al. 2007. Comparación de dos técnicas *in vitro* e *in situ* para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 20 (2007): 269-279.
- Giraldo, L. 1996. Manejo y utilización sostenible de pasturas. Medellín. Universidad Nacional de Colombia, p 359.
- González, S.A., Yáñez, M.A. y González. E.L.A. 2000. Avances de la validación y transferencia de tecnología pecuaria en los GGVATT'S de Colima. Colima, México: 64 pp
- Jones D., Hayward M. 1975. The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulose solutions. *Journal of the science of food and agriculture*. 26 (1975): 711-718.
- Narváez V., Lazcano C. 1989. Digestibilidad *in vitro* de especies forrajeras tropicales. *Pasturas tropicales*. 11 (1): 13-18.
- Peña M. y Paladines O. 1979. Digestibilidad de la material seca de forrajes tropicales usando el método de solubilidad en pepsina-celulosa. *Turrialba*. 29 (3):189-194.
- Posada, S. y Noguera, R. 2005. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. [Livestock Research for Rural Development 17 \(4\) 2005](#)**
- Quintero, M. y Moncada A. 2008. Contaminación y control de las quemas agrícolas en Imperial, California, y Mexicali, Baja California. *Región y Sociedad* Vol. 20 No. 43 p 1 – 24.
- Ruiz, R. 2012. Comparación de dos métodos *in vitro* para estimar la digestibilidad de pastos tropicales en rumiantes. *Revista Citecsa* Vol. 2, N. 2
- Saavedra C., Omaña, M., Navas, A. y Suárez, A. 2013. Evaluación de la amonificación de residuos de cosecha de *Zea mays* como alternativa para la alimentación de rumiantes *Revista Ciencia animal* 6 p. 99 - 108.
- SAS Institute Inc. 2008. SAS/TATTM, guide for personal computers, version 9.2. Ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Zambrano, D., Sánchez, A. y Meza, G. 2011. Digestibilidad (*in vivo*) de ovinos tropicales alimentados con subproductos de cosechas agrícolas bajo tres métodos de conservación. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. Vol. 1 p. 347-349

- Terry R. 1978. Comparison of two in vitro procedures using rumen liquorpepsin or pepsin-cellulase for prediction of forage digestibility. *Journal of the British Grassland Society*. 33 (1978): 13-18.
- Tilley J. M. and Terry R. A. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*. 18: 104-111.
- Toledo, E; Cabrera, J. A; Leyva, A y Pohlan, H. A. J. Estimación de la producción de residuos agrícolas en Agroecosistemas de caña de azúcar. *cultrop* 2008, vol.29, n.3 pp. 17-21.
- Zambrano, D., Sánchez, A. y Meza, G. 2011. Digestibilidad (*in vivo*) de ovinos tropicales alimentados con subproductos de cosechas agrícolas bajo tres métodos de conservación. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. Vol. 1 p. 347-349.