UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOCTECNIA

TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MODALIDAD INVESTIGACIÓN

TEMA:

EFECTO DE LA ADICIÓN DE MICROORGANISMOS EFICIENTES (ME) SOBRE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DEL PASTO SABOYA (*Megathyrsus maximus*)

AUTORES:

LISSETTE JARITZA MOREIRA GARCIA

JOSELYNE VIVIANA FLORES VELEZ

TUTOR DE TESIS:

DR. EDIS MACIAS RODRÍGUEZ. PhD

SANTA ANA – MANABÍ – ECUADOR

2019

TEMA:

“EFECTO DE LA ADICIÓN DE MICROORGANISMOS EFICIENTES (ME) SOBRE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DEL PASTO SABOYA (*Megathyrsus maximus*)”

DEDICATORIA.

Dedico este trabajo a Dios por darme la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi padre Fabián Flores y mi madre Viviana Vélez por su amor, paciencia, guía incondicional, y su formación basada en valores, construyeron en mí una mujer aguerrida de carácter fuerte para poder enfrentar la dureza de la vida. De manera especial a mis tíos Javier Vélez y Patricia Lucio por apoyarme siempre en los buenos y malos momentos de mi carrera universitaria y así también por brindarme siempre la fortaleza que necesité, Pathy como le digo cariñosamente aparte de ser mi amiga, ha sido mí segunda mamá.

A mis hermanos Andrés y Eduardo que siempre han estado dándome su apoyo moral, a mi pequeña sobrina Fabianita quien, con su ternura, manifestaciones de afecto e ingenuidad hace todos los obstáculos sean más fáciles de afrontar.

Este logro también se lo dedico a mis abuelos César Vélez y Eleida Alcívar han sido un pilar fundamental ya que, con sus enseñanzas, ayuda y preocupación me han dado aliento para continuar en cada paso que doy.

Y, por último, no menos importante a mi amiga incondicional Lissette Moreira, con la que he realizado este trabajo de titulación y a todas las personas que han sido partícipes en mi formación todo este tiempo.

Flores Vélez Joselyne Viviana.

DEDICATORIA.

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando he estado a punto de caer; por ello con toda la humildad que mi corazón puede emanar dedico primeramente mi trabajo a Dios.

A mis padres, Julián Moreira y Letty García por ser el pilar más importante quienes me apoyaron de forma incondicional, a ellos que, por su sacrificio y esfuerzo lograron guiarme a continuar con mi vida profesional para un futuro mejor.

A mis hermanas, Kerly, Eliana, Jahaira, Josselyn y Gabriela que siempre han estado junto a mí brindándome su apoyo. De manera especial a Maricela por ayudarme en gran manera a lograr mi objetivo con deseos de superación.

A mis sobrinos Smaykell, Itzel, Helen y Lía quienes con su amor hacen mi constante motivación.

A mi esposo Edis Macías quien con su amor y ayuda constante siempre ha estado en los buenos y malos momentos dándome siempre la fortaleza que necesito para seguir adelante.

A mi cuñado Denver Cedeño por su colaboración y motivación en los momentos difíciles que pasé porque cada día el hacía creer que yo podía lograr y terminar lo que comencé un día.

A mi amiga y compañera de tesis Joselyne Flores por su sincera amistad cuando siempre la necesité. Te agradezco no solo por la ayuda brindada, sino por los buenos momentos en los que convivimos.

Lissette Jaritza Moreira García.

AGRADECIMIENTO.

Agradecemos a Dios por darnos la fortaleza para culminar esta meta tan anhelada, a nuestras familias por ayudarnos en el transcurso de esta etapa profesional, en especial a nuestros Padres.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias por abrirnos sus puertas. Así también a cada uno de los docentes que fueron parte de la formación universitaria. En especial a nuestro tutor Dr. Edis Macías Rodríguez PhD., por su guía y contribución en la elaboración de este proyecto investigativo.

A la Ing. Katherine Moreira por su paciencia, conocimientos, compañía y colaboración en el transcurso de esta investigación.

Un agradecimiento especial dirigido al dueño de la Hacienda “La Soledad” el Ing. Efraín Flores de Valgas Vera, por permitir realizar parte fundamental de nuestro trabajo en su prestigiosa propiedad.

Los Autores.

CERTIFICACIÓN.

Yo, Dr. Edis Macías Rodríguez PhD como Tutor del presente trabajo de titulación certifico:

Que el trabajo de titulación: **"Efecto de la adición de microorganismos eficientes (ME) sobre la digestibilidad *in vitro* del pasto saboya (*Megathyrsus maximus*)"** realizada por los señores egresados: Moreira García Lissette Jaritza y Flores Vélez Joselyne Viviana, se desarrolló y culminó bajo mi supervisión.

Cumpliendo a cabalidad con los requisitos que para afecto se requiere.

……..

Dr. Edis Macías Rodríguez PhD.

TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA:

"Efecto de la adición de microorganismos eficientes (ME) sobre la digestibilidad *in vitro* del pasto saboya (*Megathyrsus maximus*)"

TESIS DE GRADO:

Sometida a consideración del Tribunal de Revisión y Sustentación legalizada por el Honorable Consejo Directivo como requisito previo a la obtención de Titulo de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR EL TRIBUNAL

……..	……..
Dr. Edis Macías Rodríguez, PhD.	**Dr. Edis Macías Rodríguez, PhD.**
DECANO FCV	**TUTOR DE TESIS**
…….….	…….….
Dra. Marina Zambrano Aguayo, PhD.	**Dr. Rodolfo Pedroso Soza, PhD.**
PRESISDENTE DEL TRIBUNAL	**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

……..

Dra. Maritza Barrera, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AUTORIA.

Las ideas conclusiones y recomendaciones, así como los resultados obtenidos en el presente trabajo investigativo, son propiedad exclusiva de los autores, queda prohibida la reproducción total o parcial de este trabajo.

AUTORES:

.....

Moreira García Lissette Jaritza

.....

Flores Vélez Joselyne Viviana

ÍNDICE DE CONTENIDO.

		Págs.
	TEMA	II
	DEDICATORIA	III
	DEDICATORIA	IV
	AGRADECIMIENTO	V
	CERTIFICACIÓN	VI
	APROBADA POR EL TRIBUNAL	VII
	AUTORIA	VIII
	ÍNDICE DE CONTENIDO	IX, X
	ÍNDICE DE TABLAS	XI
	ÍNDICE DE GRÁFICOS	XI
	INDICE DE ANEXOS	XII
	RESUMEN	XIII
	SUMMARY	XIV
I.	INTRODUCCIÓN	1,2
II.	ANTECEDENTES	3
III.	JUSTIFICACIÓN	4
IV.	OBJETIVOS	5
	4.1.- Objetivo General	5
	4.2.- Objetivos Específicos	5
V.	MARCO REFERENCIAL	6
	5.1. Generalidad del Pasto Saboya	6
	5.2. Estructura y Composición de la Fibra	8
	5.3. Fisiología Digestión Ruminal	8
	5.4. Microorganismos Eficientes	9
	5.5. El microorganismo Eficiente (ME) contiene:	10
	5.6. Principales Microorganismo Contenidos en el ME	11
	5.7. Modo de Acción de los Microorganismos	12
	5.8. Generalidad de la Técnica *in vitro*	13
VI.	DISEÑO METODOLÓGICO	14
	6.1. TIPO DE ESTUDIO	14

6.2. UBICACIÓN..... 14
6.2.1. Macrolocalización..... 14
6.2.2. Mesolocalización..... 14
6.2.3. Microlocalización..... 14
6.3. DURACIÓN..... 15
6.4. COMPOSICION DE MICROORGANISMOS EFICIENTES (ME)..... 15
6.5. NIVELES DE MICROORGANISMOS EFICIENTES……..... 15
6.6. EDAD DE CORTE EVALUADAS..... 15
6.7. VARIABLES EVALUADAS..... 16
6.8. MATERIALES Y EQUIPOS..... 16
6.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... 17
6.10. ANÁLISIS DE VARIANZAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS DE ME: 17
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 18
7.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PASTO SABOYA *(Megathyrsus maximus)* … 18
7.2. Digestibilidad in vitro de la materia seca..... 19
7.2.1. DIVMS a las 24 horas..... 19,20
7.2.2. DIVMS a las 48 horas..... 20,21
7.3. Producción de Gas..... 22
7.3.1. Producción de gas a las 3 horas DIVMS..... 22,23
7.3.2. Producción de gas a las 6 horas DIVMS..... 23,24
7.3.3. Producción de gas a las 12 horas DIVMS..... 24,25
7.3.4. Producción de gas a las 24 horas DIVMS..... 26,27
7.3.5. Producción de gas a las 48 horas DIVMS..... 27,28
VIII. CONCLUSIONES..... 29
IX. RECOMENDACIONES..... 30
X. PRESUPUESTO..... 31
XI. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES..... 32
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 33-37
ANEXOS..... 38-49

ÍNDICE DE TABLAS.

		Págs.
Tabla 1.	Generalidades del Pasto Saboya.....	6,7
Tabla 2.	Análisis de varianzas (ADEVA)….....	17
Tabla 3.	La composición química (%) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) del pasto saboya *(Megathyrsus maximus)*	18
Tabla 4.	Tratamientos DIVMS a las 24 horas.....	19
Tabla 5.	Edad de corte DIVMS a las 24 horas.....	19
Tabla 6.	Tratamientos DIVMS a las 48 horas.....	20
Tabla 7.	Edad de corte DIVMS a las 48 horas.....	21
Tabla 8.	Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 3h.....	22
Tabla 9.	Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 3h.....	22
Tabla 10.	Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 6h.....	23
Tabla 11.	Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 6h.....	23
Tabla 12.	Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 12h.....	24
Tabla 13.	Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 12h……...	25
Tabla 14.	Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 24h.....	26
Tabla 15.	Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 24h.....	26
Tabla 16.	Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 48h.....	27
Tabla 17.	Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 24h.....	27

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

		Págs.
Gráfico 1.	Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS) a las 24 horas.....	19
Gráfico 3.	Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS) a las 48 horas.....	21
Gráfico 5.	Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 3h.....	22
Gráfico 6.	Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 6h.....	23
Gráfico 7.	Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 12h.....	25
Gráfico 8.	Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 24h.....	26
Gráfico 9.	Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 48h.....	27

INDICE DE ANEXOS.

Págs.

	Técnicas Desarrolladas.	38
Anexo 1.	Análisis de varianza de la materia seca a las (24 horas) de digestibilidad *in vitro* (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) …….....	43
Anexo 2.	Análisis de varianza de la materia seca a las (24 horas) de digestibilidad *in vitro* (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) ……...	43
Anexo 3.	Análisis de varianza de la producción de gas a las (3 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) ……..	44
Anexo 4.	Análisis de varianza de la producción de gas a las (6 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) …….....	44
Anexo 5	Análisis de varianza de la producción de gas a las (12 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) ……..	44
Anexo 6	Análisis de varianza de la producción de gas a las (24 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) ……..	45
Anexo 7.	Análisis de varianza de la producción de gas a las (24 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) ……	45
Anexo 8.	Producción de gas de la (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*), con sus diferentes tratamientos……	45
Anexo 9.	Producción de gas de la (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*), con las distintas edades de corte……	46
Anexo 10.	Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) para el corte de tres edades (15, 30 y 45 días), sembrado y recolectado en la Hacienda “La Soledad” del Cantón Chone, parroquia Eloy Alfaro del sitio Calibre……...	46
Anexo 11.	Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) ubicado en bandejas para el deshidratado……	46
Anexo 12.	Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) molido luego de haberse deshidratado……	47
Anexo 13.	Procedimiento para obtener proteína cruda (PC), FDN, FDA, lignina y ceniza.	47
Anexo 14.	Saliva artificial, Microorganismos eficientes con la solución madre, peso del pasto molido y depositado en los frascos ámbar……	47
Anexo 15.	Preparación y resultado de la incubación del experimento……	48
Anexo 16.	Vaca fistulada y obtención del licor ruminal……	48
Anexo 17.	Agitador, dosificador y gaseado de frascos ámbar para la incubación de la producción de gas *in vitro* (PGiv)……	48
Anexo 18.	Toma de (PGiv) en 3, 6, 12, 24 y 48 horas. Filtración de la incubación utilizando crisoles de Gooch……	49
Anexo 19.	Entrega de la obra a las autoridades de la Facultad de Ciencias Veterinarias.	49

RESUMEN.

Se evaluó la composición química, la digestibilidad *in vitro* de Materia Seca (DIVMS) y la producción de gas *in vitro* (PGiv) del Pasto Saboya *(Megathyrsus maximus*) adicionando microorganismos eficientes (ME). Los niveles de ME con dilución en agua destilada: T0 (control o testigo), T1= 0.5%, T2=1%, T3= 2% y T4=4%, con 3 cortes de pasto a los 15, 30 y 45 días. El diseño experimental fue DCA, con arreglo factorial 5x3 en donde se evaluaron cinco tratamientos en tres edades de corte. La DIVMS fue en 24 y 48 horas y la PGiv a las 3, 6, 12, 24 y 48 horas. Los resultados obtenidos fueron en proteína cruda (PC) el 13% así también para el contenido de fibra detergente neutra (FDN) 73.03% indicando que estos valores corresponden al corte de pasto de 30 días. En cuanto a la lignina detergente acida (LDA) el mayor contenido fue en el pasto de 45 días con 8.06%. La DIVMS a las 24 y 48 horas con (p=0.001) para el T1 48.38% y 56.90% en comparación con el T0 con 45.28% y 54.89%; entre la edad de corte de 15, 30 y 45 días a las 24 y 48 horas, existió diferencias estadísticas (p=0.001) siendo mayor la DIVMS a en pasto de 15 días con 50.33% y 57.16%. Entre los tratamientos en la PGiv a las 48 horas no existió diferencias estadísticas, mientras entre la edad de corte existió diferencia estadística (p= 0.001), siendo mejor el de 30 días con 270.06 ml/0.5 gMS frente al de 15 días con 209.46 ml/0.5 gMS. En conclusión, el mejor resultado fue para T1 con 0.5:100 (ME), mientras que la DIVMS a los 15 días fue mejor y la PGiv se destacó a los 30 días.

Palabras claves: microorganismos eficientes, edad de corte, digestibilidad, tratamientos.

SUMMARY.

The chemical composition, in vitro digestibility of Dry Matter (DIVMS) and in vitro gas production (PGiv) of Savoy Grass (Megathyrsus maximus) were evaluated by adding efficient microorganisms (ME). ME levels with dilution in distilled water: T0 (control or control), T1 = 0.5%, T2 = 1%, T3 = 2% and T4 = 4%, with 3 grass cuts at 15, 30 and 45 days. The experimental design was DCA, with a 5x3 factorial arrangement where five treatments were evaluated at three cutting ages. The DIVMS was at 24 and 48 hours and the PGiv at 3, 6, 12, 24 and 48 hours. The results obtained were in crude protein (PC) 13% as well as for the content of neutral detergent fiber (NDF) 73.03% indicating that these values correspond to the cut of grass of 30 days. Regarding lignin acid detergent (LDA), the highest content was in the 45-day pasture with 8.06%. DIVMS at 24 and 48 hours with (p = 0.001) for Q1 48.38% and 56.90% compared to T0 with 45.28% and 54.89%; Between the cut-off age of 15, 30 and 45 days at 24 and 48 hours, there were statistical differences (p = 0.001), the DIVMS being higher than in 15-day pasture with 50.33 and 57.16%. Among the treatments in the PGIV at 48 hours there were no statistical differences, while between the cut-off age there was a statistical difference (p = 0.001), the 30-day one with 270.06 ml / 0.5 gMS being better compared to the 15-day one with 209.46 ml. /0.5 gMS In conclusion, the best result was for T1 which indicates 0.5: 100 (ME), while the DIVMS at 15 days was better and the PGiv stood out at 30 days.

Keywords: efficient microorganisms, age of cut, digestibility, treatments.

I. INTRODUCCIÓN.

Los rumiantes basan su alimentación en el consumo de forrajes, los cuales, por su alta producción de biomasa, representan una opción para mejorar la productividad a nivel tropical; sin embargo, es necesario determinar el contenido nutricional y digestibilidad de los alimentos. (Ortega *et al*., 2015)

Según Moran (2019), el pasto Saboya también conocido como guinea, chilena o cauca, cuyo nombre científico cambió de *Panicum máximum* a *Megathyrsus maximus Jacq* en el año 2003, de origen africano está bien distribuido en el Ecuador. Los recursos forrajeros del *Megathyrsus maximus* tienen una elevada productividad y amplia difusión ya que, es una gramínea que se adapta a diferentes tipos de suelos, aunque con alto potencial de producción.

(Arce *et al.,* 2003), menciona que 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). 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*. Por ende, es necesaria la incubación de los alimentos con líquido ruminal durante 48 horas a una temperatura de 39°C.

Según Klein (2014) la población bacteriana relacionada con la digestión fermentativa es muy amplia, con al menos 28 especies funcionalmente importantes, localizadas en el rumen, entre ellos microorganismos tales como las bacterias celulolíticas (*Bacteroides succinogenes*), bacterias hemicelulolíticas (*Butyrivibrio fibrisolvens*), bacterias pectinolíticas (*Streptococcus bovis*), bacterias aminolíticas (*Bacteroides amylophilus*), bacterias ureolíticas (*Ruminococcus bromii*), bacterias principales productoras de metano (*Methanobrevibacter ruminantium*), bacterias que utilizan azúcares (*Treponema bryantii*), bacterias que utilizan ácidos (*Megasphaera elsdenii*), bacterias proteolíticas (*Bacteroides amylophilus*).

Los procesos de fermentación permiten la degradación de la dieta consumida en los rumiantes generando ácidos grasos volátiles (AGV), que son su principal fuente de energía y los microorganismos endógenos del sistema digestivo bovino. Además, estas bacterias y protozoarios aportan una fuente proteica que necesitan los animales día a día. (Macías *et al.,* 2017)

(Brum *et al.,* 2017), menciona que el conocimiento de la digestibilidad de los alimentos es básico para establecer su valor nutritivo y, por tanto, para la formulación de raciones para los animales rumiantes. Por otro lado, este proceso conlleva a una producción de gas metano (CH4), dióxido de carbono (CO2), óxido nitroso (N2O) siendo los gases más considerables.

Así también Sánchez (2013), indica que los microorganismos eficientes conformados por las bacterias fototróficas, bacterias fotosintéticas, bacterias ácido lácticas, levaduras, entre otros. También existen otros microorganismos beneficiosos a todo este proceso donde la materia orgánica es suministrada por el reciclado de residuos de los cultivos, materia verde y desecho de animales. Por lo tanto, se entiende por ME a un grupo de especies microbianas cuya presencia y/o inoculación en un suelo, mejoran su fertilidad, física, química, biológica, y resistencia a los patógenos, entre otras.

ANTECEDENTES.

Los microorganismos eficientes (ME) es una tecnología desarrollada en 1980 por el profesor Teruo Higa de la universidad del Ryukyus en Okinawa, Japón y quien además introdujo el término de Microorganismos Eficientes (E.M.). Estos microorganismos se utilizan como medio para mejorar las condiciones del suelo, suprimiendo enfermedades que inducen al deterioro del mismo y mejorando la eficacia de la utilización de la materia orgánica de las cosechas.

De acuerdo al estudio realizado por (Cobeña & Delgado,2018) titulado la **"Evaluación de la degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca proveniente del Pasto Saboya (*Panicum maximum*), y Panca de Maíz (*Zea mays*) a diferentes tiempos, adicionándole microorganismos eficientes (ME) en el agua de bebida de los bovinos"** obteniendo resultados donde en la degradabilidad ruminal *in situs*, se observó un comportamiento positivo al aplicar el tratamiento T1 a las 72 horas y su consumo de agua de bebida empleando microrganismos eficientes, también significativo.

II. JUSTIFICACIÓN.

Una de las principales razones para realizar este trabajo es dar a conocer el uso de microorganismos eficientes en la nutrición de rumiantes como nueva alternativa para mejorar y aumentar la digestibilidad de la fibra especialmente pastos más lignificados y de poco aprovechamiento.

Este trabajo busca obtener conocimientos amplios acerca de la utilización de microorganismos eficientes de tal manera que mejore la producción ganadera para obtener una alimentación ecológica debido a su composición de bacterias, hongos y levaduras benéficas para una mejor conversión de carne y leche.

Por tanto, realizar la determinación de técnicas de digestibilidad permitirá obtener valores requeridos por los nuevos sistemas de evaluación de alimentos para predecir el desempeño del animal con respecto a las dietas y a las raciones administradas de un alimento en específico.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Cuál es el efecto que puede presentar la adición de microorganismos mediante la adición de microorganismos eficientes mediante la técnica de digestibilidad in vitro en pasto saboya (*Megatyrssus maximus*). Sin duda la falta de alternativas en la nutrición rumiantes con los aditivos biológicos definiéndose a la digestibilidad como la cantidad de alimento que desaparece en el tracto digestivo en un procedimiento de laboratorio debido a su ataque por los microorganismos anaerobios ruminales.

Por lo anterior, se plantea la siguiente hipótesis:
"La aplicación de microorganismos eficientes (ME) mejora la digestibilidad *in vitro* de la materia seca del pasto saboya (*Megatyrssus maximus*)."

IV. OBJETIVOS.

4.1.- Objetivo General.

Determinar el efecto de la adición de microorganismos eficientes (ME) sobre la digestibilidad *in vitro* del pasto saboya (*Megathyrsus maximus).*

4.2.- Objetivos Específicos.

- Caracterizar la composición química del pasto saboya (*Megathyrsus maximus*) en tres edades de corte 15, 30 y 45 días.
- Medir la digestibilidad *in vitro* de la materia seca a las 24 y 48 horas de incubación del pasto saboya en 3 edades de corte.
- Evaluar la producción de gas a las 3, 6, 12, 24 y 48 horas sobre la digestibilidad *in vitro* de tres edades de corte de pasto Saboya.

V. MARCO REFERENCIAL.

5.1. Generalidad del Pasto Saboya.

El Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) gramínea exótica originaria de África, según el tercer Censo Nacional Agropecuario (2002) es la especie forrajera que se encuentra mayormente difundida a nivel nacional; también conocido como chilena o guinea el cual ocupa el 38,32% de la superficie de pastos cultivados en el país. (Loayza, 2008)

Tabla 1. Generalidades del Pasto Saboya:

Nombre científico	*Megathyrsus maximus* cultivar TANZANIA 1 – BRA – 007218.
Nombre vulgar	Colonial Tanzania, Saboya mejorado.
Origen	Tanzania – África.
Liberado	1990 / EMBRAPA - CNPGC – BRASIL.
Tiempo de vida	Pastura permanente (Perenne).
Habito de crecimiento	Cespitoso Matoso Erecto, Hojas anchas pendientes de 2½ cm/1.30 a 1.50 m.
Relación tallo/hojas	20 / 80 %. Abundante predominio de hojas sin vellos ni serosidades.
Producción de materia verde	Hasta 133 Toneladas / Hectárea / Año EMBRAPA
Producción de heno de hojas	26 toneladas / Hectárea / Año.
Contenido de proteína cruda	12 a 14 %.
Soportabilidad	5 cabezas adultas / Hectárea / Año.
Condiciones ideales de suelo	Alta / Mediana fertilidad / Bien drenados / Buena textura.
Tolerancia/resistencia	Pisoteo, Quema, Sequía, Sombra / Salivazo.

Palatabilidad	Excelente todo el año para Equinos, Vacunos, Rumiantes menores, Cuyes.
Digestibilidad	Excelente en verde / Buena cuando madura (57-61 %).
Tamaño de semilla	Muy pequeña: 854 semillas por gramo: 1.17 gramos = 1,000 semilla.
Densidad de siembra	5 kg. de Semilla / Hectárea (GERMITERRA Lote 005 / 2005) Pureza = 85.5 % - Viabilidad TZ = 79 % - Valor Cultural TZ = 67.
Tiempo de establecimiento	90 a 120 días post emergencia.
Temperatura/precipitación	20 a 35 Grados C. / 800 a 1,500 mm. / Año.
Altitud	De 0 a 1,800 m.s.n.m.
Pastoreo o corte	Cuando alcance 90 cm. hasta que tenga 35 cm. de altura sobre el suelo.
Utilización	Pastoreo Rotativo / Al Corte como Pasto Verde entero o picado / Heno / Ensilaje / Para Equinos, Vacas en lactación, Acabado de engorde.

(Albarracin, 2013).

Es una planta perenne de crecimiento amacollado o en matojos, que puede alcanzar de 1,60 a 3 metros de altura y de 1 a 1,5 metros de diámetro del macollo. Tiene un crecimiento recto al inicio de su crecimiento, posteriormente crece lateralmente al desarrollarse nuevos macollos. Los tallos son fibrosos y se engrosan con el desarrollo. Presentan hojas divididas en lámina y vaina que envuelve al tallo, unidas por un apéndice membranoso llamado lígula. Están dispuestas en dos hileras sobre el tallo, ascendentes y planas, tienen venación paralela, alcanzan de 0,30 a 0,90 m de longitud y de 10 a 30 mm de ancho y están cubiertas por vellosidades. (Izurieta, 2015)

5.2. Estructura y Composición de la Fibra.

Megathyrsus maximus como en la mayoría de las gramíneas, la calidad disminuye con la edad. La proteína cruda varia de 11% a las doce semanas de edad hasta 5.5% con cortes a los tres meses. La disminución en la calidad nutritiva de este pasto es más acentuada en época seca. (Suárez, 2013)

El Pasto Saboya brinda un buen resultado nutritivo en rumiantes en donde es posible obtener una alta productividad animal y una excelente ganancia de peso. Sin fertilización, las ganancias diarias de peso animal oscilan entre 100 y 175 g/animal/día, lo que equivale a 200 o 400 kg de peso vivo/ha por año. (Suárez, 2013)

El valor nutricional del pasto Saboya en fresco es (Loayza, 2008):

- Agua 73.31%.
- Proteína 12 - 14%.
- Carbohidratos 12,26%.
- Grasa 0,55%.
- Celulosa 8,43%.
- Cenizas 3,19%.

5.3. Fisiología Digestión Ruminal.

Los rumiantes se caracterizan por su capacidad para alimentarse de pasto o forraje. Esta característica se basa en la posibilidad de poder degradar los hidratos de 11 carbonos estructurales del forraje, como celulosa, hemicelulosa y pectina, muy poco digestibles para las especies de estómago simple o no rumiantes. Basada en esta diferencia fundamental, la fisiología digestiva del rumiante adquiere características particulares.

La degradación del alimento se realiza mayoritariamente por digestión fermentativa y no por acción de enzimas digestivas, y los realizan diferentes tipos de microorganismos a los que el rumiante aloja en retículo – rumen. (Relling *et al.,* 2003).

Según (Van Lie *et al.,* 2008) la mayoría de los microorganismos que se encuentran en el retículo rumen son anaerobios estrictos. Estos microorganismos son principalmente bacterias, protozoarios, y hongos del tipo de las levaduras. Así también (Toalombo, 2012), menciona que existen tres sitios diferentes en donde están ubicados los microorganismos en el rumen: aquellos adheridos a la pared, los que se encuentran asociados a partículas alimenticias y libres, flotando en el líquido ruminal

Los protozoarios se hallan en mucha menor concentración que las bacterias y su función es menos definida. La población microbiana no sólo degrada alimentos, sino que sintetiza sus propias proteínas, aún a partir de nitrógeno no proteico. (García *et al.,* 1969)

En el rumen se modifica el alimento consumido, se degradan la celulosa y los carbohidratos solubles, se altera la secuencia de aminoácidos de las proteínas y se sintetizan algunas vitaminas del Complejo B. El hecho más sobresaliente de la digestión en los rumiantes es su capacidad para utilizar todas las formas de celulosa. La celulolisis falta en el reino animal, ningún mamífero segrega celulasa, que es la enzima que degrada la celulosa, pero las bacterias y los hongos celulolíticos, que conviven simbióticamente en el rumen, producen un complejo enzimático β-1-4 glucosidasas capaz de solubilizar entre 70 y 90 % de la celulosa. (Díaz *et al.,* 2008)

5.4. Microorganismos Eficientes.

La tecnología de los microorganismos eficientes (EM) fue desarrollada por Teruo Higa, profesor de horticultura de la Universidad de Ryukyus en Okinawa, Japón. A comienzos de los años sesenta este docente comenzó con la búsqueda de una alternativa que reemplace a los fertilizantes y plaguicidas sintéticos, en los últimos años se ha incursionado en su uso con procesos de compostaje, tratamiento de aguas residuales, ganadería y también para la limpieza del hogar. (Arismendi *et al.,* 2010)

Estudios de las interacciones entre los diferentes integrantes de las comunidades microbianas han demostrado en varias ocasiones una mayor eficiencia de estos grupos en los procesos de degradación, frente a estudios que involucran solo a un conjunto. (Arismendi *et al.,* 2010)

El Microorganismo Eficiente (ME) contiene:

- Lactobacillus, similares a los que se utilizan para fabricar el yogur y los quesos.
- Levaduras, como las que se emplean para elaborar el pan, la cerveza o los vinos.
- Bacterias Fototróficas o Fotosintéticas, habitantes comunes de los suelos y de las raíces de las plantas.

Los ME no son nocivos, ni tóxicos, ni genéticamente modificados por el hombre; son naturales, benéficos y altamente eficientes. El descubrimiento del Dr. Higa consistió en hallar la forma de que estos tres grupos pudieran coexistir, realizando una combinación que tiene un efecto sinérgico, es decir que la –tarea de equipo es superior a la suma de sus miembros individuales. (BID, 2009)

Investigaciones muestran que la inoculación de cultivos de ME al ecosistema del suelo/planta mejora la calidad y salud del suelo, y el crecimiento, producción, calidad de los productos. También en el uso en animales ha demostrado beneficios similares. (Toalombo, 2012)

Los ME ayuda al proceso de descomposición de materiales orgánicos y durante la fermentación produce ácidos orgánicos que normalmente no está disponible como: ácidos lácticos, ácidos acéticos, aminoácidos y ácidos málicos, sustancias bioactivas y vitaminas. (Toalombo, 2012)

Las levaduras (*Saccharomyces spp*) son uno de los probióticos más utilizados en monogástricos y rumiantes. Existe una aceptación favorable en rumiantes en el caso de vacas lecheras debido al aumento de la celulolisis ruminal y del flujo de proteína microbiana al intestino. (Bueno *et al.,* 2007)

5.5. Principales Microorganismos Contenidos en el ME.

a) Bacteria fotosintética (fototrófica).

Bacterias autótrofas que sintetizan sustancias útiles a partir de secreciones de raíces, materia orgánica y gases dañinos. Las sustancias sintetizadas comprenden aminoácidos, ácidos nucleicos, sustancias bioactivas y azúcares, promoviendo el crecimiento y desarrollo de las plantas. (Martínez *et al.,* 2006)

Los metabolitos son absorbidos directamente por ellas, y actúan como sustrato para incrementar la población de otros microorganismos eficientes. Estas bacterias funcionan como un componente importante del EM. Ayudan a mantener el balance con otros microorganismos benéficos, permitiendo a coexistir y funcionar con los mismos. (Martínez *et al.,* 2006)

b) Bacterias acido lácticas.

Estas bacterias producen ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos sintetizados por bacterias fototróficas y levaduras. El ácido láctico es un fuerte esterilizador, suprime microorganismos patógenos e incrementa la rápida descomposición de materia orgánica. Las bacterias ácido lácticas aumentan la fragmentación de los componentes de la materia orgánica, como la lignina y la celulosa, transformando esos materiales sin causar influencias negativas en el proceso. (Bueno *et al.,* 2007) (Martínez *et al.,* 2006)

c) Levaduras.

Las levaduras sintetizan y utilizan las sustancias antimicrobianas que intervienen en el crecimiento de las plantas, a partir de los aminoácidos y azúcares producidos por las bacterias fotosintéticas, la materia orgánica y de las raíces las plantas. (Zambonino, 2013)

Las sustancias bioactivas, tales como hormonas y enzimas producidas por las levaduras incrementan la actividad celular y el número de raíces como menciona (Zambonino, 2013). Sus secreciones son substratos útiles para ciertos microorganismos efectivos, tales como las bacterias ácido lácticas y los actinomicetos. (Toalombo, 2012)

d) Actinomicetos.

Intervienen entre las bacterias y hongos, ya que producen sustancias antimicrobianas a partir de los aminoácidos y azúcares producidos por las bacterias fotosintéticas (*Rhodospirillales* y *Rhizobiales*) y por la materia orgánica. Esas sustancias antimicrobianas suprimen hongos dañinos y bacterias patógenas. Los actinomicetos pueden coexistir con la bacteria fotosintética. Así, ambas especies mejoran la calidad de los suelos a través del incremento de la actividad microbiana. (Martínez *et al.,* 2006)

e) Hongos de fermentación.

Los hongos de fermentación como el *Aspergillus* y el *Penicillium* actúan descomponiendo rápidamente la materia orgánica para producir alcohol, esteres y sustancias antimicrobianas. Esto es lo que produce la desodorizacion y previene la aparición de insectos perjudiciales. (Toalombo, 2012)

5.6. Modo de Acción de los Microorganismos.

Cuando los microorganismos eficientes incrementan su población, como una comunidad en el medio en que se encuentran, la actividad de los microorganismos naturales, enriquecen la microflora, balanceando los ecosistemas microbiales y suprimiendo microorganismos patógenos en rumiantes. (Hoyos *et al.,* 2010)

Los ME tiene varias aplicaciones en la producción animal, dentro de las cuales se incluye a la alimentación adecuada, el cuidado de la salud, selección y desarrollo de razas bien adaptadas a nuestro medio. Además, para lograr efectos positivos, se debe tomar en cuenta que ME son microorganismos vivos y se les deba tratar como tal, es decir, se deben crear condiciones adecuadas para su total desarrollo y completa labor. (Yépez *et al.,* 2002)

5.7. Generalidad de la técnica *in vitro*.

La composición química de un alimento es solamente una indicativa de su contenido de nutrientes, por tanto, es necesario contar con datos de digestibilidad (Shimada, 2003). Así también Ruiz (2011), indica que las técnicas *in vitro* desarrolladas desde la década de los sesenta y actualmente las más utilizadas, este método realizado por Tilley y Terry en el año de 1963 y de Van Soest en 1966, considerados los procedimientos más exactos para la predicción de digestibilidad en rumiantes.

Dentro de ella se incluye las técnicas de solubilidad en líquido ruminal – pepsina y solubilidad en celulasa. La técnica solubilidad en líquido ruminal-pepsina, es también conocida como el método de Tilley y Terry en (1963) ya que se basa inicialmente en una fase fermentativa con microorganismos contenidos en el líquido ruminal de animales previamente canulados y luego una fase enzimática con pepsina en medio ácido, añadiendo ácido clorhídrico (HCL). El empleo correcto de la técnica *in vitro* o de laboratorio permite, en un tiempo relativamente corto, obtener un alto número de repeticiones o de muestras según sea el interés. (Ruiz, 2011)

Según (Menke, 1979), a finales de la década de los setenta fue desarrollado un método en el cual se incubaron forrajes con microorganismos del rumen, los cuales liberaban gas que fue tomado como una medida indirecta de su digestibilidad y contenido de energía metabolizable. Esta técnica de producción de gas ayuda a medir las tasas de digestión de las fracciones solubles e insolubles de los forrajes para rumiantes además analiza una amplia gama de alimentos ya sean pastos, forrajes o inclusive granos, debido a que su condición *in vitro* posibilita una manipulación fácil de los sustratos.

VI. DISEÑO METODOLÓGICO.

6.1. UBICACIÓN.

El experimento consistió en dos fases:

- La fase de campo, donde se recolectó el pasto en tres edades de corte ubicado en el Cantón Chone, parroquia Eloy Alfaro del sitio Calibre. Hacienda “La Soledad”.
- La fase de laboratorio se realizó en la parroquia Lodana en los laboratorios agropecuarios de la Universidad Técnica de Manabí en el área de Bromatología.

6.1.1. Macrolocalización: El presente trabajo se realizó en Ecuador Provincia: Manabí, Cantón: Santa Ana, Parroquia: Lodana.

6.1.2. Mesolocalización: La provincia de Manabí está situada en el centro de la Región Litoral del país. Se extiende por ambos lados de la Línea Equinoccial o Ecuatorial, de 0o, 25' de latitud norte hasta 1o, 57' de latitud sur y de 79o, 24' de longitud oeste, hasta los 80o, 55' de longitud este.

6.1.3. Microlocalización: Geográficamente Santa Ana, está ubicada a 1°12' de Latitud Sur y 80° 22' de Longitud Oeste, geográficamente se encuentra en el centro sur de la Provincia de Manabí; limita al Norte con el Cantón Portoviejo, al Sur con los Cantones Olmedo y 24 de mayo; al Este con el Cantón Pichincha y al Oeste con los Cantones 24 de Mayo, Jipijapa y Portoviejo.

Geográficamente la Parroquia Lodana, está ubicada a 1°18' de Latitud Sur y 80° 39' de Longitud Oeste, pertenece al cantón de Santa Ana, Sus principales comunidades de Lodana son Níspero, Veldaco, Agua amarga, Las lomas de las balsas, Camino nuevo, San Jacinto.

6.2. DURACION.

El tiempo de la presente investigación fue de 4 meses entre el trabajo de campo y en el laboratorio.

6.3. TIPO DE ESTUDIO.

El tipo de investigación fue experimental, puesto que se registró, cuantificó e interpretó variables de respuestas recolectadas durante el ensayo.

6.4. COMPOSICION DE MICROORGANISMOS EFICIENTES (ME).

La composición de los ME utilizados en este experimento fueron:

- ✓ Bacterias fototróficas (*Rhodopseudomonas spp).*
- ✓ Bacterias acido lácticas (*Lactobacillus spp*).
- ✓ Levaduras (*Saccharomycetes spp*).
- ✓ Actinomicetos.
- ✓ Bacterias fotosintéticas (*Rhodospirillales y Rhizobiales*).
- ✓ Hongos filamentosos (*Aspergillius y Penicillium*).

La obtención de estos ME fue del Campus Experimental la Teodomira de la Facultad Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí considerada como solución madre, por parte del Ing. Julio Mero.

6.5. NIVELES DE MICROORGANISMOS EFICIENTES.

Se utilizó 4 niveles de dilución con agua destilada de microorganismos eficientes (ME) comparados con un testigo. Los cuales son:

- Nivel 0 %=T0 Sin ME.
- Nivel 0.5%=T1 - 0.5:100
- Nivel 1%=T2 1:100.
- Nivel 2%=T3 2:100.
- Nivel 4%=T4 4:100.

6.6. EDAD DE CORTE EVALUADAS.

El forraje utilizado fue el Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) con las siguientes edades de corte:

- 15 días de edad.
- 30 días de edad.
- 45 días de edad.

6.7. VARIABLES EVALUADAS.

- Digestibilidad in vitro de la materia seca a las 24 y 48 horas (%).
- Producción de gas a las 3, 6, 12 ,24 y 48 horas (ml/0,5g MS) con tres edades de corte 15, 30 y 45 días.

6.8. MATERIALES Y EQUIPOS.

- Kit de reactivos para bromatología.
- Biológico de microorganismos eficientes.
- Estufa.
- Desecador.
- Congelador.
- Horno de incineración (mufla).
- Vaso de precipitación.
- Balanza Analítica.
- Fiolas.
- Crisoles de porcelana.
- Pipeta.
- Kitazato.
- Balones de digestión Kjeldahl.
- Cocina de Digestión.
- Aparato de destilación de Micro Kjeldahl.
- Molino IKA MF 10 Basic.
- Dosificador de 10 a 50 ml BOECO.
- Agitador calentador análogo marca MTOPS, MODELO: HS-180.
- Bomba de vacío R 300, 670 MM/H6-21L/MIN-1/8 HP.
- Crisol Gooch de 30 ml de vidrio.
- Extractor de gases.

6.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para el efecto de la aplicación de los ME sobre la digestibilidad in vitro de la materia seca a 24 y 48 h se evaluó mediante el diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial (5 x 3); donde se comparó el efecto de 5 niveles de ME en tres edades de corte del Pasto Saboya, con 3 repeticiones.

Para las comparaciones de media se utilizó la prueba de Tukey ($p<0,05$). El análisis se realizó mediante el uso del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2012).

El modelo aditivo lineal es el siguiente:

$Y_{ijk}= \mu + \alpha_j+\beta_k+(\alpha\beta)_{jk}+ \varepsilon_{ijk}$

Dónde: Y =observaciones para las variables dependientes

μ = media general

α= efecto de tratamientos (1, 2, 3, 4, 5)

β= efecto de edad de corte (1, 2, 3)

$\alpha\beta$ = efecto de interacción entre el factor A y factor B (5x3)

ε= error experimental.

6.10. ANÁLISIS DE VARIANZAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS DE ME:

Tabla 2. Análisis de varianzas (ADEVA).

FUENTE DE VARIACION (FV)	*GRADOS DE LIBERTAD (GL)*
TRATAMIENTOS DE ME.	4
EDAD DE CORTE.	2
INTERACCION (TRAT x EDAD).	8
ERROR EXPERIMENTAL.	30
TOTAL.	44

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PASTO SABOYA *(Megathyrsus maximus).*

De acuerdo los resultados obtenidos del análisis bromatológico del Pasto Saboya a diferentes edades de corte (15, 30 y 45 días), se observaron los siguientes datos mostrándose en la tabla 3.

Tabla 3. La composición química (%) (Base seca) y energía neta de lactancia (Mcal/kg.MS) del pasto saboya (*Megathyrsus maximus*).

	15 DIAS	30 DIAS	45 DIAS
PROTEÍNA CRUDA %	10,50 ± 0,22	13,00 ± 0,67	7,65 ± 0,13
FDN %	57,63 ± 1,10	73,03 ± 1,22	69,92 ± 0,91
FDA %	31,71 ± 0,31	39,55 ± 0,95	39,29 ± 0,24
LDA %	4,14 ± 0,39	5,03 ± 0,46	8,06 ± 0,24
CENIZA %	15,67 ± 0,20	12,55 ± 1,84	13,10 ± 0,58
CELULOSA %	27,57 ± 0,54	34,55 ± 0,95	30,63 ± 2,42
HEMICELULOSA %	26,71 ± 0,93	33,49 ± 1,71	30,63 ± 0,80
MATERIA ORGÁNICA %	84,34 ± 0,20	87,83 ± 1,84	86,97 ± 0,58
EN_L Mcal/kg.MS	1,144 ± 0,030	0,746 ± 0,033	0,831 ± 0,025

FDN= Fibra detergente neutra; FDA= Fibra detergente acida; LDA= Lignina detergente acida y ENL=Energía neta de lactancia

(Flores & Moreira, 2019)

Por otro lado, en el parámetro de FDN es importante para predecir el consumo voluntario de la materia seca, por lo que existen varias ecuaciones para ello y esto explica que a mayor contenido de FDN, menor será el consumo de la materia seca (Mertens 1987 y Allen 1996), debido a este criterio y como se puede observar en la tabla 3, en los 30 días (73.03%) vs 15 días (57.63%) y 45 días (69.92%) respectivamente.

De igual forma, de acuerdo a los valores porcentuales de FDA y LDA utilizados en ecuaciones de predicción de la digestibilidad de la materia seca de los forrajes, se explica también que, a mayor FDA será menor la digestibilidad Briceño *et al,* (1987) y García *et al,* (2003).

En cuanto a la ceniza, el pasto cortado a los 15 días presentó mayor porcentaje (15,67%) en comparativa con los pastos cortado a los 30 (12,55%) y 45 días (13,10%), los porcentajes de ceniza en las 3 edades de corte se consideran, ya que en el estudio efectuado sobre el pasto Saboya por Peñaherrera (2015), determinó que el porcentaje de ceniza a los 60 días de descanso tuvo una media de 13,73 % pero con un tiempo de descanso de 40 días obtuvo un rendimiento de la ceniza del 13,25 %, concluyendo que los resultados obtenidos en esta investigación se asemejan con los que menciona el autor.

7.2. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS).

7.2.1. DIVMS a las 24 horas de fermentación.

Tabla 4. Tratamientos DIVMS a las 24 horas

TRATAMIENTOS	24 HORAS
T0 0%	45.28 ^{b} ± 5,13
T1 0.5%	48.38 ^{a} ± 4,41
T2 1%	47.49 ^{ab} ± 4,44
T3 2%	46.38 ^{ab} ± 4,97
T4 4%	42.87 ^{c} ± 3,47

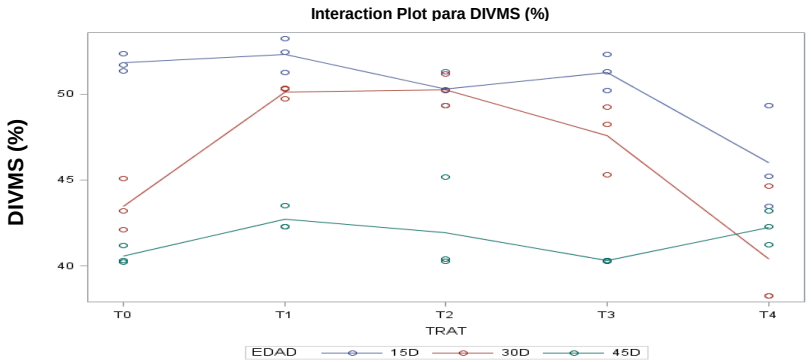
Los valores representan la media ± D.E. de 9 datos. Letras diferentes indican diferencias estadísticas en relación a la cantidad añadida (%) de microorganismos eficientes (ME), por tratamientos. T0 = tratamiento control sin (ME), T1= tratamiento 1 con 0,5 ml (ME), T2= tratamiento 2 con 1 ml (ME), T3= tratamiento 3 con 2 ml (ME) y T4= tratamiento 4 con 4 ml (ME).

Tabla 5. Edad de corte DIVMS a las 24 horas.

EDAD DE CORTE	24 HORAS
15 DIAS	50.33 ^{a} ± 2,70
30 DIAS	46.35 ^{b} ± 4,37
45 DIAS	41.54 ^{c} ± 1,53

Los valores representan la media ± D.E. de 15 datos, las letras diferentes en la columna 24 horas (tiempo de fermentación), indican diferencia estadística en relación al corte de edad del pasto.

Gráfico 1. Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS) a las 24 horas.



Las líneas representan la interacción de la edad del pasto con los15 tratamientos (5x3).

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca a las 24 horas (tabla 4) entre los tratamientos existió diferencia estadística (p=0.001), siendo mejor el T1, reportando (48.38 %), frente el testigo con (45.28 %) respectivamente. Así también como se observa en el tratamiento 4 (T4), con (42.87%) con 4% (ME) se considera que no existe un alosterismo.

En cuanto a la edad de corte del pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) como se observa en la tabla 5, también existió diferencia estadística, (p=0.001) siendo más digestible el pasto de 15 días (50.33%) en comparación con los dos restantes (30 y 45 días) con DIVMS de (46.35) y (41.54%) respectivamente, según Peñaherrera (2015), indica que cuando la edad de pasto aumenta hay una disminución de la calidad y digestibilidad del mismo, por lo tanto, existe diferencia significativa entre los cortes de edad.

De igual manera como se observa en el gráfico 1, existió interacción entre los tratamientos y la edad de corte (p=0.001), en el T2 entre los 15 y 30 días siendo iguales, puesto que en el T4 el pasto de 30 días es superado en su DIVMS por el corte de pasto de 45 días respectivamente.

A esto se le atribuye que en el T4 de la utilización de ME al 4% cuando este tenía una edad de 45 días al corte, no presentó un alosterismo, pero sí disminuye la digestibilidad debido a su maduración.

7.2.2. DIVMS a las 48 horas de fermentación.

Tabla 6. Tratamientos DIVMS a las 48 horas.

TRATAMIENTOS	48 HORAS
T0 0%	54.89 ^{b} ± 1,97
T1 0.5%	56.90 ^{a} ± 4,24
T2 1%	53.99 ^{b} ± 2,42
T3 2%	54.36 ^{b} ± 2,21
T4 4%	54.96 ^{b} ± 1,30

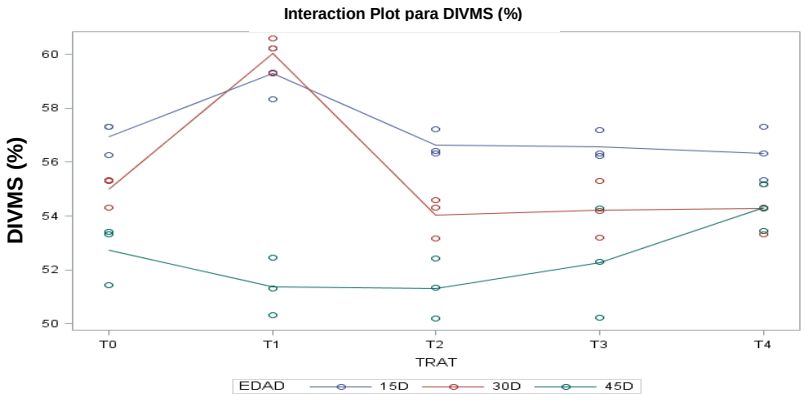
Los valores representan la media ± D.E. de 9 datos. Letras diferentes indican diferencias estadísticas en relación a la cantidad añadida (%) de microorganismos eficientes (ME), por tratamientos. T0 = tratamiento control sin (ME), T1= tratamiento 1 con 0,5 ml (ME), T2= tratamiento 2 con 1 ml (ME), T3= tratamiento 3 con 2 ml (ME) y T4= tratamiento 4 con 4 ml (ME)

Tabla 7. Edad de corte DIVMS a las 48 horas.

EDAD DE CORTE	48 HORAS
15 DIAS	57.16 ^{a} ± 1,29
30 DIAS	55.51 ^{b} ± 2,47
45 DIAS	52.39 ^{c} ± 1,58

Los valores representan la media ± D.E. de 15 datos, las letras diferentes en la columna 48 horas (tiempo de fermentación), indican diferencia estadística en relación al corte de edad del pasto.

Gráfico 2. Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS) a las 48 horas.



Las líneas representan la interacción de la edad del pasto con los15 tratamientos (5x3).

Para la DIVMS a las 48 horas, al comparar los tratamientos como se observa en la tabla 6, hubo diferencia estadística (p=0.001) siendo mejor el T1 con (56.89%) frente al testigo (T0) con (54.88%).

Así mismo al comparar las edades de corte del pasto existió diferencia estadística (p=0.001), presentando mayor digestibilidad el pasto de 15 días con (57.16 %), frente a los de 30 y 45 días (55.51) y (52.39%). De acuerdo a estos resultados Jurado (2019), menciona que los compuestos nitrogenados de las gramíneas suelen tener una elevada degradación ruminal cuando están tiernos, pero disminuye la digestibilidad mientras aumenta la maduración.

En cuanto a la interacción entre los tratamientos y la edad de corte del pasto, también existió diferencia estadística (p=0.001), en el (T1) a los 30 días de corte se destacó en comparación a las otras edades, pudiendo decir que esta misma edad de 30 días a las 48 horas presentó mayores rendimientos por tratamientos totales vs al de 15 y 45 días observándose en el gráfico 2.

7.3 Producción de gas *in vitro.*

7.3.1. Producción de gas *in vitro* a las 3 horas DIVMS.

Tabla 8. Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 3h.

TRATAMIENTOS	3 HORAS
T0 0%	91.89 [a] ± 3.88
T1 0.5%	91.94 [a] ± 3.98
T2 1%	91.49 [a] ± 4.22
T3 2%	91.68 [a] ± 4.58
T4 4%	91.85 [a] ± 4.90

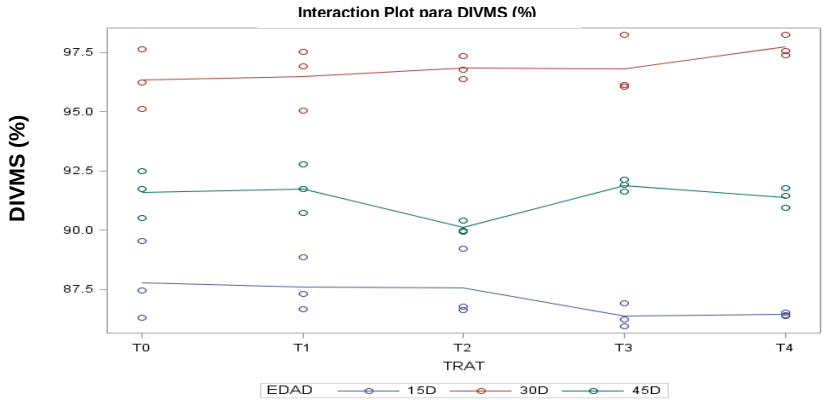
Los valores representan la media ± D.E. de 9 datos. Letras diferentes indican diferencias estadísticas en relación a la cantidad añadida (%) de microorganismos eficientes (ME), por tratamientos. T0 = tratamiento control sin (ME), T1= tratamiento 1 con 0,5 ml (ME), T2= tratamiento 2 con 1 ml (ME), T3= tratamiento 3 con 2 ml (ME) y T4= tratamiento 4 con 4 ml (ME).

Tabla 9. Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 3h.

EDAD DE CORTE	3 HORAS
15 DIAS	87.14 [c] ± 1,14
30 DIAS	96.82 [a] ± 1,00
45 DIAS	91.54 [b] ± 0,88

Los valores representan la media ± D.E. de 15 datos, las letras diferentes en la columna 3 horas (tiempo de producción de gas *in vitro*), indican diferencia estadística en referencia al corte de edad del pasto.

Gráfico 3. Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 3h.



Las líneas representan la interacción de la edad del pasto con los15 tratamientos (5x3).

Entre los tratamientos no mostró diferencia estadística (tabla 8). En cambio, con respecto a la edad de corte del pasto, existió diferencias (p=0.001), siendo el mayor productor de gas el pasto de 30 días con (96.82 ml/0.5g MS) en comparación con las dos edades restantes 15 y 45 días con (87.14 y 91.54 ml/0.5g MS) respectivamente.

Entre los tratamientos y la edad de corte correspondientes a las tres horas de producción de gas, no presentó interacción (gráfico 3).

7.3.2. Producción de gas a las 6 horas DIVMS.

Tabla 10. Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 6h.

TRATAMIENTOS	6 HORAS
T0 0%	98.93 [a] ± 5.36
T1 0.5%	98.57[a] ± 5.40
T2 1%	97.79 [a] ± 5.04
T3 2%	97.68 [a] ± 6.21
T4 4%	98.16 [a] ± 6.07

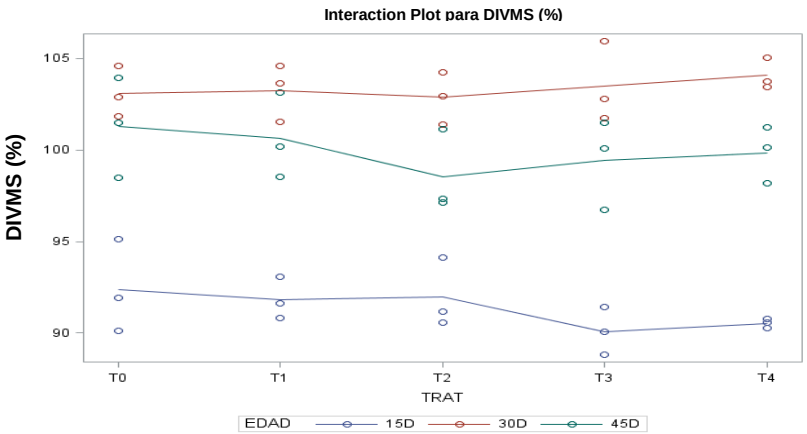
Los valores representan la media ± D.E. de 9 datos. Letras diferentes indican diferencias estadísticas en relación a la cantidad añadida (%) de microorganismos eficientes (ME), por tratamientos. T0 = tratamiento control sin (ME), T1= tratamiento 1 con 0,5 ml (ME), T2= tratamiento 2 con 1 ml (ME) T3= tratamiento 3 con 2 ml (ME) y T4= tratamiento 4 con 4 ml (ME).

Tabla 11. Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 6h.

EDAD DE CORTE	6 HORAS
15 DIAS	91.35 [c] ± 1,65
30 DIAS	103.36 [a] ± 1,37
45 DIAS	99.95 [b] ± 2,18

Los valores representan la media ± D.E. de 15 datos, las letras diferentes en la columna 6 horas (tiempo de producción de gas *in vitro*), indican diferencia estadística en referencia al corte de edad del pasto.

Gráfico 4. Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 6h.



Las líneas representan la interacción de la edad del pasto con los15 tratamientos (5x3).

En los tratamientos no presentó diferencia estadística porque todos se comportaron iguales (tabla 10). En cambio, con respecto a la edad de corte del pasto, si existió diferencia estadística (p=0.001); encontrándose que el pasto de 30 días (103.36 ml/0.5g MS) fue mayor en comparación con las otras dos edades correspondientes 15 y 45 días.

Según Giraldo *et al.,* (2006) la fermentación en forrajes tropicales la tasa acumulativa en el período de fermentación de 6 y 12 horas la producción de gas aumenta ya que probablemente esté relacionado a la fermentación de carbohidratos estructurales.

En lo que compete a la interacción entre los tratamientos y la edad de cortes correspondientes a las 6 horas de producción de gas, no existió interacción (gráfico 4). Sin embargo, Posada *et al.,* (2005), indica que a las primeras horas en que el pasto empieza a fermentarse una parte del sustrato los primeros en fermentarse son los azúcares, por lo que existe una menor cantidad de material hidratado y la colonización de los microorganismos ruminales originan tasas de degradación dependiendo de la concentración de los carbohidratos estructurales, el contenido de lignina y la maduración del pasto.

7.3.3. Producción de gas a las 12 horas DIVMS.

Tabla 12. Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 12h.

TRATAMIENTOS	12 HORAS
T0 0%	116.50 ^{a} ± 9.59
T1 0.5%	115.37 ^{a} ± 9.32
T2 1%	115.03 ^{a} ± 8.23
T3 2%	114.78 ^{a} ± 9.84
T4 4%	114.59 ^{a} ± 9.97

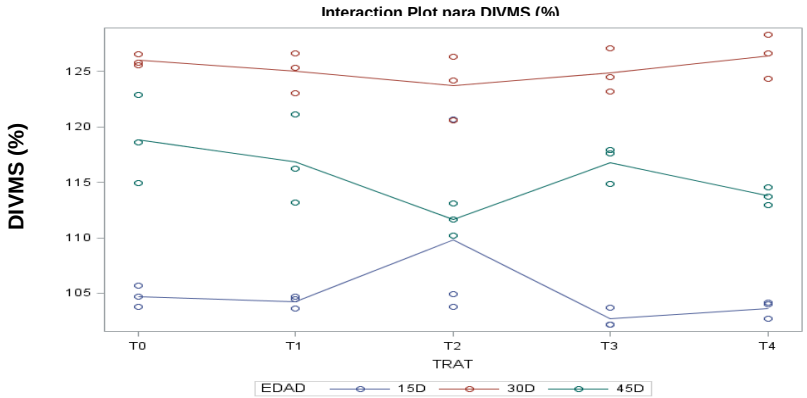
Los valores representan la media ± D.E. de 9 datos. Letras diferentes indican diferencias estadísticas en relación a la cantidad añadida (%) de microorganismos eficientes (ME), por tratamientos. T0 = tratamiento control sin (ME), T1= tratamiento 1 con 0,5 ml (ME), T2= tratamiento 2 con 1 ml (ME), T3= tratamiento 3 con 2 ml (ME) y T4= tratamiento 4 con 4 ml (ME).

Tabla 13. Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 12h.

EDAD DE CORTE	12 HORAS
15 DIAS	105.00 ^{c} ± 4,44
30 DIAS	125.20 ^{a} ± 1,95
45 DIAS	115.55 ^{a} ± 3,51

Los valores representan la media ± D.E. de 15 datos, las letras diferentes en la columna 12 horas (tiempo de producción de gas *in vitro*), indican diferencia estadística en referencia al corte de edad del pasto.

Gráfico 5. Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 12h.



Las líneas representan la interacción de la edad del pasto con los15 tratamientos (5x3).

Entre los tratamientos de ME aplicados (tabla 12), no existe diferencia estadística, también Posada *et al.,* (2006), indica que es de importancia la fuente que posee un inóculo, ya que puede alterar la capacidad predictiva del volumen de gas a partir de los datos obtenidos de presión y de la relación directa con el volumen, independientemente del origen del gas. Con respecto a la edad de corte del pasto existió diferencia estadística (p=0.001), siendo el que mayor gas produjo a los 30 días de corte con (125.20 ml/0.5g MS), frente a 15 y 45 días que reportaron (105 y 115.55 ml/0.5g MS) respectivamente.

En otro apartado Giraldo *et al.,* (2006), también menciona que durante las primeras horas las tasas de fermentación son mayores por un factor ligado a la fermentación de carbohidratos solubles. Para la interacción tratamiento frente a edad de corte a las 12 horas no existió interacción (gráfico 5).

7.3.4. Producción de gas a las 24 horas DIVMS.

Tabla 14. Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 24h.

TRATAMIENTOS	24 HORAS
T0 0%	**169.41** [a] ± 21.94
T1 0.5%	167.09 [a] ± 20.00
T2 1%	166.98 [a] ± 21.11
T3 2%	166.72 [a] ± 21.47
T4 4%	156.80 [b] ± 17.24

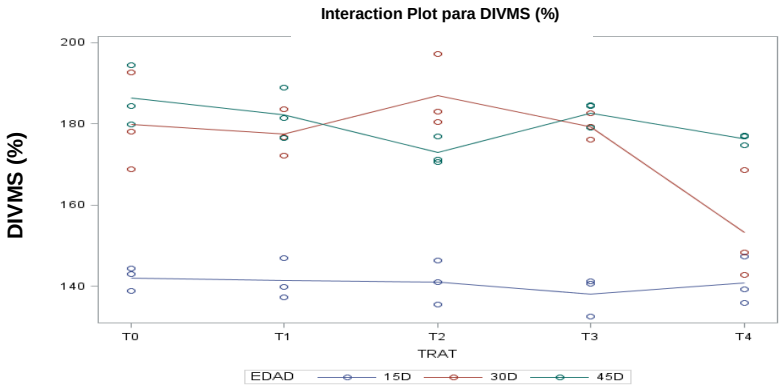
Los valores representan la media ± D.E. de 9 datos. Letras diferentes indican diferencias estadísticas en relación a la cantidad añadida (%) de microorganismos eficientes (ME), por tratamientos. T0 = tratamiento control sin (ME), T1= tratamiento 1 con 0,5 ml (ME), T2= tratamiento 2 con 1 ml (ME) T3= tratamiento 3 con 2 ml (ME) y T4= tratamiento 4 con 4 ml (ME).

Tabla 15. Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 24h.

EDAD DE CORTE	24 HORAS
15 DIAS	140.69 [b] ± 4,38
30 DIAS	175.40 [a] ± 4,38
45 DIAS	180.10 [a] ± 6,46

Los valores representan la media ± D.E. de 15 datos, las letras diferentes en la columna 24 horas (tiempo de producción de gas in vitro), indican diferencia estadística en referencia al corte de edad del pasto.

Gráfico 6. Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 24h.



Las líneas representan la interacción de la edad del pasto con los15 tratamientos (5x3).

Para la producción de gas *in vitro* a las 24 horas (tabla 14), entre los tratamientos se encontró diferencia estadística (p=0.0045), siendo el de menor producción de gas el T4 156.80 ml/0.5g MS frente a los tratamientos restantes. Por otra parte, La O *et al.,* (2009), refieren que los altos valores en producción de gas pudieran deberse a la concentración de carbohidratos y nutrientes de fácil fermentación.

Con respecto a la edad de corte, también se reporta diferencia estadística (p=0.001), por lo que el pasto de 30 y 45 días produjo mayor cantidad de gas in vitro (175.40 y 180.10 ml/0.5g MS) en comparación con el de 15 días que fue menor (140.69 ml/0.5g MS). Así también, con respecto a la interacción entre los tratamientos y la edad de corte no existe diferencia estadística (gráfico 6).

7.3.5. Producción de gas a las 48 horas DIVMS.

Tabla 16. Tratamientos de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 48h.

TRATAMIENTOS	48 HORAS
T0 0%	253.87 [a] ± 31.12
T1 0.5%	249.40 [a] ± 28.68
T2 1%	253.99 [a] ± 37.98
T3 2%	246.2 [a] ± 36.90
T4 4%	253.25 [a] ± 29.79

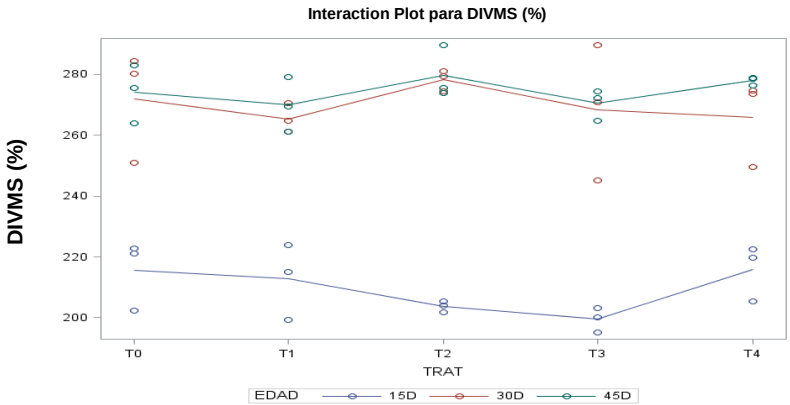
Los valores representan la media ± D.E. de 9 datos. Letras diferentes indican diferencias estadísticas en relación a la cantidad añadida (%) de microorganismos eficientes (ME), por tratamientos. T0 = tratamiento control sin (ME), T1= tratamiento 1 con 0,5 ml (ME), T2= tratamiento 2 con 1 ml (ME), T3= tratamiento 3 con 2 ml (ME) y T4= tratamiento 4 con 4 ml (ME).

Tabla 17. Edad de corte de la producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 24h.

EDAD DE CORTE	48 HORAS
15 DIAS	209.46 [b] ± 10,12
30 DIAS	270.06 [a] ± 13,31
45 DIAS	247.49 [a] ± 7,45

Los valores representan la media ± D.E. de 15 datos, las letras diferentes en la columna 48 horas (tiempo de producción de gas in vitro), indican diferencia estadística en referencia al corte de edad del pasto.

Gráfico 7. Producción de gas *in vitro* (mL/0,5g MS) a las 48h.



Las líneas representan la interacción de la edad del pasto con los15 tratamientos (5x3).

Finalmente, entre los tratamientos de ME (tabla 16) no existe diferencia estadística, lo que indica que los microorganismos comunes del rumen son similares a la producción de gas en comparación a los ME. Con respecto a la edad de corte del pasto de 30 días obtuvo un mayor resultado (270.06 ml/0.5 g MS) con un (p=0,001), en comparación con el pasto el pasto de 15 y 45 días. Esto indica que a menor edad del pasto (15 días) se encuentra menos lignificado y la producción de gas es relativamente menor. En cambio, no existió interacción entre los tratamientos y la edad de corte por lo que su comportamiento fue similar entre ellos.

VIII. CONCLUSIONES.

Según los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

- ✓ La composición química del pasto saboya al considerar la proteína cruda el mejor es el pasto a los 30 días con un (13 %) siendo considerado como el más adecuado para incluirlo en la dieta de los rumiantes.

- ✓ La digestibilidad *in vitro* de la materia seca, a las 24 y 48 horas de fermentación, mejoró con la adición de ME 0.5% (T1) existiendo diferencia estadística (p=0.0001) en el pasto de 15 días obteniendo un resultado de (48.38 y 56.90%).

- ✓ La producción gas total *in vitro* en diferentes horas de fermentación (3, 6, 12, 24 y 48 horas) y de acuerdo a los tratamientos de ME el único que existió diferencia significativa fue a las 24 horas, siendo así el T4 diferente al resto de tratamientos (T0, T1, T2 y T3). Y de acuerdo a las edades de corte (15, 30 y 45 días), existió diferencia estadística (p=0.0001); siendo el de mayor producción a las 48 horas en pasto de 45 días

IX. RECOMENDACIONES.

Según las condiciones con las cuales se llevó a cabo esta investigación se recomienda:

- Se recomienda utilizar el T1 que tuvo un nivel de 0.5% de ME diluido en agua, debido que fue la mejor digestibilidad *in vitro* de la Materia seca tanto a las 24 y 48 horas, En cuanto a la edad de corte del pasto, fue mejor el de 15 días, pero se recomienda a los 30 días porque se obtiene una mayor cantidad de materia seca y el nivel de recuperación es el adecuado (30 a 40 días).

- Realizar trabajos similares en época de sequía para evaluar la composición química de este pasto con la finalidad de comparar los resultados reportados en esta investigación.

- Determinar el comportamiento de varias producciones de Microorganismos Eficientes para estandarizar la concentración microbiana en la aplicación tanto en el agua de bebida, como en el forraje.

X. PRESUPUESTO.

CANTIDAD	CONCEPTO	VALOR UNITARIO	VALOR TOTAL
1	Kit de reactivos para bromatología.	2548.00	2548.00
1	Agitador calentador análogo marca MTOPS. Modelo Hs-180.	399.84	399.84
1	Ácido sulfúrico grado analítico en presentación de 2.5 litros.	32.20	32.20
1	Xylano de maíz.	165,00	165,00
10	Tapón de cauchos.	70,08	70,08
1	Tapones de viales aluminio.	268,80	268,80
1	Bomba al vacío R300, 670 mm/h6 – 21 L/min – 1/8 HP.	339.00	399.00
2	Toretes para fistular.	1200.00	1200.00
1	Dosificador de 10 – 50ML BOECO.	510.72	456.72
1	Capuchón de aluminio.	268.80	268.80
6	Balón KJELDHAL 100 ml.	75.26	75.26
2	Mangueras de silicona.	10.00	10.00
20	Crisol de Gooch de 30 ml de vidrio.	800.00	800.00
1	Flauta correctora de gases para equipo Micro KJELDHAL.	45.00	45.00
5	Kitazato de 500 ml Glasco.	200.00	200.00
1	Vitrina biblioteca puerta de vidrio classic 2.	167.81	167.81
2	Cánulas ruminales de 4 pulgadas.	840.00	840.00
1	Alimentación.	85.00	85.00
1	Útiles de oficina.	43.12	43.12
1	Combustible.	34.60	34.60
2	Termómetros.	53.76	56.73
1	L-cisteína.	229.60	229.60
1	Rollo de gasa.	30.00	30.00
1	Ethanol.	235.00	235.00
1	Materiales para actividad enzimática.	3,65	3,65
	TOTAL...	**8.000**	**8.000**

XI. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

	ACTIVIDADADES	MESES									
		Oct–Nov–Dic/2018			Ene-Feb–Mar/2019			Abr–May-Jun–Jul/2019			
		10	11	12	01	02	03	04	05	06	07
1	Obtención de materiales, acondicionamiento del área de trabajo, evaluación física y corporal de bovinos fistulados.	x	x	x							
2	Ensayo para la fase experimental				x						
3	Corte de igualación para obtención del pasto de corte.					x					
4	Obtención de muestras de los pastos y su respectiva deshidratación.						x				
5	Ejecución de la fase experimental del proyecto							x	x		
6	Escritura y entrega del informe final al revisor									x	
7	Entrega del proyecto a las autoridades correspondientes									x	
8	Presentación y defensa del proyecto ante el tribunal correspondiente										x

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Albarracin, L. W. (2013). Evaluación de la composición nutricional de microsilos de King Grass y Pasto Saboya en dos estados de madurez con 25% de contenido ruminal de bovinos faenados en el camal municipal del cantón Quevedo. Latacunga, Cotopaxi, Ecuador.

Arismendi, E.; Pacheco, F. & Cárcamo, M. (noviembre de 2010). Obtenido dehttp://www.rapaluruguay.org/organicos/articulos/microorganismos_eficientes.html

Arce, C., Arbaiza, T., Carcelén, F., & Lucas, O. (2003). Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *14*(1), 07-12.

Astudillo Martínez, H. R. (2015). Determinación de la edad y la hora de corte sobre la concentración de carbohidratos solubles en el Panicum maximum (Pasto Guinea) (Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo).

Allen, M. S. 1996. Physical constraints on voluntary intake offorage by ruminants. J. Animal Science. 74: 3063-3075.

BID. (Julio de 2009). www.emuruguay.org. Obtenido de http://www.emuruguay.org/images/Manual_Practico_Uso_EM_OISCA_BID.pdf

Bueno, L. C., & Lesmes, R. N. (2007). repository.lasalle.edu.co. Obtenido de http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6741/13012006.pdf?sequence=1

Cardona Gómez, J., & García Galindo, L. A. (12 de 2008). Obtenido de http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis204.pdf

Cobeña V, Delgado M. (2018) Evaluación de la degradabilidad ruminal in situ de la materia seca proveniente del Pasto Saboya (Panicum maximum), y Panca de Maíz (Zea mays) a diferentes tiempos, adicionándole microorganismos eficientes (ME) en el agua de bebida de los bovinos.

Díaz, A. R., Galindo Blanco, J. L., Bocourt Salabarría, R., Laurencio Silva, M., & Pérez Quintana, M. (2008). Obtenido de http://monografias.umcc.cu/monos/2008/Agronomia/m082.pdf

García Tobar, & Marcos, G. (1969). http://www.produccion-animal.com.ar/. Obtenido de http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/02anatomia_fisiologia_digestivo.pdf

García, M.; Et al. (2012). Sitio Argentino de Producción Animal. Obtenido de http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/45-Empleo_probioticos.pdf

Giraldo, L. A., Gutiérrez, L. A., Sánchez, J., & Bolívar, P. A. (2006). Relación entre presión y volumen para el montaje de la técnica in vitro de producción de gas en Colombia. Livestock Research for Rural Development, 18(6).

Gonzáles, J. D. (25 de noviembre de 2013). Alternativas para la reducción de emisiones de metano. Recuperado el 2 de junio de 2018, de Cegesti: http://www.cegesti.org/exitoempresarial/publicaciones/publicacion_246_251113_es.pdf

Hoyos, A. A. (2010). Microorganismos eficientes y su beneficio para la agricultura y el medio ambiente. Journal de ciencia e ingeniería, 42-45.

Izurieta, W. R. (2015). Obtenido de https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/88614/D-79987.pdf

Jurado, Y. J. (2019). Comportamiento agronómico del pasto saboya (Panicum maximum Jacq), expuesto a diferentes niveles de irradiación con rayos gamma (60Co) en el cantón Babahoyo-Provincia de Los Ríos" (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2019).

Klein, B. P. (2014). Fisiología Veterinaria. Barcelona, España: Elsevier España.

La, O., Valenciaga, D., González, H., Orozco, A., Castillo, Y., Ruíz, O.,... & Arzola, C. (2009). Efecto de la combinación de Tithonia diversifolia y Pennisetum purpureum vc. Cuba CT-115 en la cinética y producción de gas in vitro. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 43(2), 149-152.

Loayza, J. P. (2008). Repositorio ESPE. Recuperado el septiembre de 2016, de http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/3009/4/T-ESPE-IASA%20II-002059.pdf

Macías, P. F. Y., Cevallos, J. H. A., Jurado, M. D. F. V., Espinoza, V. G., Lozano, N. V. A., & Hidrovo, C. A. M. (2017). Levadura viva (Saccharomyces

cerevisiae) en la degradabilidad in vitro de una dieta para bovinos basada en forraje más concentrado. Ciencia y Tecnología, 10(1), 35-40.

Mauricio, R. M., Mould, F. l., Dhanoa, M. S., Owen, E., Channa, K. S. and Theodorou, M. K. 1999. Asemi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Anim. Feed Sci. Technol. 79:321-330.

Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). Them estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. The Journal of Agricultural Science, 93(1), 217-222.

MERTENS, D. R. 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. ASAS Symposium "Factors lnfluencing forage utilization in the Ruminant. J. Animal Sci. 64: 1548-1558.

Moran Salazar, C. I. (2019). *Comparación de dos intervalos de Cortes del pasto Saboya (Panicum máximum Jacq.), en su rendimiento de biomasa y valor nutritivo* (Bachelor's thesis, Babahoyo: UTB, 2019).

Ortega Aguirre, C. A., Lemus Flores., Prado, B., Oswaldo, J., Alejo Santiago., Ramos Quirarte., & Bonilla Cárdenas, J. A. (2015). Características agronómicas, composición bromatológica, digestibilidad y consumo animal en cuatro especies de pastos de los géneros Brachiaria y Panicum. CONACYT.

Peñaherrera, A. D. (2015). Producción y calidad forrajera de pasto saboya (Panicum máximum Jacq) a diferentes edades y alturas de corte (Bachelor's thesis, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Carrera de Ingeniería Agropecuaria.).

Pezo, J. A. (2008). http://www.cib.espol.edu.ec/Digipath/D_Tesis_PDF/D-42606.pdf. Recuperado el 2016, de http://www.cib.espol.edu.ec/Digipath/D_Tesis_PDF/D-42606.pdf

Posada, S. L., & Noguera, R. 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), 12-19.

Posada, S. L., Solano, R. N., & Vergara, D. M. B. (2006). Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica in vitro de producción de

gases en Medellín, Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 19(4), 407-414.

R. Martínez & M. Andrés. (2006). Obtenido de file:///C:/Users/Sandra/Downloads/MICROORGANISMOS%20EFICIENTES%20TESJS.pdf

Relling, A. E., & Mattioli, G. A. (2003). Obtenido de file:///C:/Users/Sandra/Downloads/572270772.fisio%20dig%20rumiantes Relling%20y%20Mattioli%20-%20Fac.%20Cs.%20Veterinarias%20-%20UNLP.pdf

Rodríguez, N. M., Saliba, E. O. S., & Guimarães-Júnior, R. (2007). Uso de indicadores para estimar consumo y digestibilidad de pasto. LIPE, lignina purificada y enriquecida. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 20(4), 12.

Rodríguez López, M. (2009). Rendimiento y valor nutricional del pasto Panicum maximun CV mombaza a diferentes edades y alturas de corte.

Ruiz, R. (2011). Comparación de dos métodos in vitro para estimar la digestibilidad de pastos

Sánchez, Alfredo. «Consultor de Sistemas de Producción Sostenibles.» Mejora de la Digestibilidad del Rumiante usando Microorganismos Eficaces. 16 de septiembre de 2013. https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/mejora-digestibilidad-rumiante-usando-t30360.htm (último acceso: 13 de abril de 2019).

Sandoval, L., Miranda Romero, L. A., Lara Bueno, A., Huerta Bravo, M., Uribe Gómez, M., & Martínez, M. (2016). Fermentación in vitro y la correlación del contenido nutrimental de leucaena asociada con pasto estrella. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(SPE16), 3185-3196.

Suárez, I. M. (2013). Obtenido de http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/605/1/T-UTEQ-0097.pdf

Tilley, J.M.A.; R.A. Terry. 1963. A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. J. Br. Grassl. Soc. 18: 104-111

Toalombo, I. R. (2012). Obtenido de http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/2217/1/Tesis-22agr.pdf

Torre, C., & Caja, G. (2004). Utilización de aditivos en rumiantes: vitaminas y aminoácidos protegidos. XIV Curso de Especialización Avances en nutrición y Alimentación Animal.

Travieso, M. D. C., Álvarez, J. S. G., Puente, S. L., Solís, C. V., & Bochi-Brum, O. (1999). Digestibilidad in vitro de forrajes y concentrados: efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. Archivos de zootecnia, 48(181), 51-61. tropicales en rumiantes. Revista Ciencia, Tecnología, Sociedad y Ambiente, 2(2), 11-24.

Van Lie, E., & Regueiro, M. (2008). Obtenido de http://prodanimal.fagro.edu.uy/cursos/AFA/TEORICOS/Repartido-Digestion-en-Reticulo-Rumen.pdf

Vinces, M. E. (2014). Incidencia de los microorganismos eficientes en el tiempo de descomposición de abonos de origen animal. La técnica, 18-25.

Yépez, A. S., Masaki Shintani, Panfilo Tabora, R. B., Okumoto, S., & Tylor, R. (12 de 2002). Obtenido de https://images.engormix.com/externalFiles/6_produccion_animal_sostenible_com_em.pdf

ANEXOS.

TÉCNICAS DESARROLLADAS.

Análisis químico del pasto utilizado Pasto Saboya *(Megathyrsus maximus).*

Muestreo.

En este caso se recolectó el pasto saboya (*Megathyrsus maximus*) clasificando las muestras por edad de corte a 15, 30 y 45 días, tomando 2kg de cada una. Para el muestreo se seleccionó un área de aproximadamente 10 metros cuadrados directamente en el campo, en un potrero en pastoreo rotativo, se hizo un cerramiento con alambres y se limpió la maleza, el pasto se cortó totalmente para poder tomar la primera muestra a los 15 días, así mismo para el muestreo de 30 y 45 días.

Preparación de muestra.

Obtenida la muestra se realizó el proceso de desecado y molienda.

Desecado.

En los tres cortes de pasto con diferentes edades que son 15,30 y 45 días se realizó el desecado por 72 horas con dos bandejas de muestras, en una máquina deshidratadora casera cuya temperatura oscila entre 45 a 60° C, perteneciente al Departamento de Producción de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Una vez culminado el proceso mencionado se pesó nuevamente cada muestra para determinar la humedad. Es necesario tomar en cuenta que el proceso de desecado se debe de manejar con cuidado debido que la temperatura debe ser de 60° C, caso contrario podría producir efecto o reacción de Maillard con una menor temperatura.

Molienda.

Luego del desecado de las muestras se procedió a la molienda mediante la utilización de un molino IKA MF 10 Basic con cuchillas de tamices 2,1 o 0,5mm, de grosor de muestra.

En este caso se molió a 1mm, lo recomendable es 1mm para análisis químicos y 2mm en procesos de degradación. La muestra molida se colocó en fundas se ziploc debidamente rotulados con fecha, cantidad y característica de la misma.

Para el análisis bromatológico se hizo uso de los Métodos analíticos eficientes de AOAC INTERNATIONAL.

Determinación de ceniza del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) a los 15, 30 y 45 días de corte.

Las muestras se incineran a 600°C, se quema todo el material orgánico y el material inorgánico, el cual no se destruye, es aquel que se denomina ceniza.

Procedimiento.

Primero se pesó el crisol y luego se colocó una muestra 2 gramos, posteriormente se colocó en un horno incinerador y mantuvo a una temperatura de 600°C durante 6 horas. Se retira el crisol de la mufla y se coloca en el desecador para que este enfríe al ambiente, con el objetivo de que este no adquiera humedad. Finalmente se pesa el crisol con el resultado final.

Cálculo.

Porcentaje de ceniza = Peso de ceniza x 100 / Peso de muestra.

Determinación de proteína cruda del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) a los 15, 30 y 45 días de corte.

La proteína cruda se obtiene por destrucción de la materia orgánica, ya sea de un concentrado, forraje o cualquier compuesto, por acción del ácido sulfúrico a altas temperaturas. El resultado obtenido es sulfato de amonio que posteriormente se destila a amonio.

Reactivos.

- ✓ Ácido sulfúrico concentrado.
- ✓ Catalizador (Sulfato de Potasio, 100 g y Sulfato de Cobre, 0,25g)
- ✓ Ácido bórico con indicador de pH.
- ✓ Ácido clorhídrico. 0.05 N.
- ✓ Hidróxido de sodio al 50%.

Procedimiento.

- ✓ Pesar 0,25 gramos de muestra.
- ✓ Agregar 1 gramo de catalizador de oxidación, mezcla de sulfato de potasio y sulfato de cobre, con el objetivo de acelerar la reacción.
- ✓ Agregar 3 ml de Ácido Sulfúrico concentrado.
- ✓ Colocar en el balón de digestión.
- ✓ La digestión termina cuando el contenido del balón es completamente cristalino. De ser necesario añadir gotas de peróxido, como cuando la digestión es muy lenta y difícil.
- ✓ Colocar la muestra digerida en el aparato de destilación y agregar 10 ml de hidróxido de sodio concentrado.
- ✓ Conectar inmediatamente el vapor para que se produzca la destilación.
- ✓ A continuación, se conecta el refrigerante y recibir el destilado en un Erlenmeyer de 125 ml, conteniendo 10 ml de la mezcla de ácido bórico con indicadores de pH.
- ✓ La destilación concluye cuando se detiene el pasaje de amoniaco y se produce el viraje con Ácido Clorhídrico. 0,05.
- ✓ Registrar el gasto de la reacción.

Cálculo.

La cantidad de nitrógeno de la muestra se obtiene mediante la fórmula siguiente:

% de Nitrógeno = ml de HCl x Normalidad x Meq del N x 100 / Gramos de muestra

Para obtener la cantidad de proteína bruta, se multiplica el valor del % de Nitrógeno por el factor 6,25 % de Proteína = % de Nitrógeno x 6,25

Análisis de fibra del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) a los 15, 30 y 45 días.

Fibra detergente neutra (FDN).

Reactivos:

- ✓ Neutral detergent solution, concentrate (ANKOM TECHNOLOGY).
- ✓ Triethylene Glycol.

- ✓ Alpha-amylase ANKOM.
- ✓ Acetona.
- ✓ Agua destilada.

Procedimiento.

- ✓ Se pesó las bolsas de filtro.
- ✓ Se rotuló las bolsas de filtro previamente pesadas.
- ✓ Se pesó la muestra (0,50 g), luego se realiza el sellado de las bolsas.
- ✓ Se colocó en el equipo de fibra de 1 a 1,5 litros de reactivo FDN, por un lapso de una hora y quince minutos a una temperatura de 100°C.
- ✓ Culminado el proceso, se realizó tres enjuagues, dos con agua destilada caliente y Alpha-amylase ANKOM por 10 minutos, y el último solo con agua destilada por 5 minutos más.
- ✓ Se procedió a extraer las muestras procesadas del cual se extrajo el exceso de agua destilada. Posteriormente fueron sumergidas en acetona con una duración de tres minutos; se quitó el exceso de acetona y se dejó por 3 horas para que se evapore la acetona.
- ✓ Luego se colocó en la estufa a una temperatura de 105°C por 24 horas.
- ✓ Pasada las 24 horas se procedió a pesar las bolsas de filtros más la muestra.

Cálculo.

$$\% \text{ FDN} = (Wo-Wt) / S * 100$$

Donde:

- Wo= Peso de bolsa F57 secado en estufa, más muestra.
- Wt=Tara de la bolsa F5
- S= peso de la muestra seca

Fibra Detergente Ácida (FDA).

Procedimiento.

- ✓ Se colocó en el equipo de fibra de 1 a 1,5 litros de reactivo FDA, por un lapso de una hora y quince minutos a una temperatura de 100°C.

- ✓ Culminado el proceso, se realizó tres enjuagues, dos con agua destilada caliente y Alpha-amylase ANKOM por 5 minutos, y el último solo con agua destilada por 5 minutos más.
- ✓ Se procedió a extraer las muestras procesadas del cual se extrajo el exceso de agua destilada. Posteriormente fueron sumergidas en acetona con una duración de tres minutos; se quitó el exceso de acetona y se dejó por 3 horas para que se evapore la acetona.
- ✓ Luego se colocó en la estufa a una temperatura de 105°C por 24 horas.
- ✓ Pasada las 24 horas se procedió a pesar las bolsas de filtros más la muestra.

Cálculo.

$$\% \text{ FDN} = (Wo-Wt) / S * 100$$

Donde:

- Wo= Peso de bolsa F57 secado en estufa, más muestra.
- Wt=Tara de la bolsa F57.
- S= Peso de la muestra seca.

Lignina.

Determinación de la lignina detergente ácida al residuo de la fibra detergente ácida es sometida a la digestión en ácido sulfúrico al 72 % en un vaso de precipitado durante 4 horas con movimientos circulares por diez minutos con intervalos de treinta minutos.

Luego se procedió a enjuagar con agua destilada hasta quitar todo el residuo de ácido, posteriormente se sometieron al secado en una estufa a 105 °C durante 12 horas.

Cálculo.

$$\% \text{ LDA} = (Wo-Wt) / S * 100$$

Donde:

- Wo= Peso de bolsa F57 secado en estufa, más muestra.
- Wt=Tara de la bolsa F57.
- S= Peso de la muestra seca.

Determinación de la Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca.

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), se midió a las 24 y 48 horas de incubación. El licor ruminal se obtuvo de una vaca fistulada, metodología utilizada fue de Goering modificada por Van Soest (1970) y acreditado por la AOAC (2005).

Medición de Producción de Gas en Digestibilidad *in vitro.*

Simultáneamente cuando se realizaba la digestibilidad *in vitro* se midió la producción de gas metano (CH4), dióxido de carbono (CO2), óxido nitroso (N2O) a diferentes tiempos (3, 6, 12, 24 y 48 horas) utilizando un transductor de presión (PSI) adaptado a una aguja n° 23 (0,6 mm), modelo T443A (Bailey y Mackey, Birmingham, UK) y conectado a un dispositivo visual. Los valores reportados fueron en mL/g.MO del sustrato, estimándose mediante la ecuación cuadrática (Mauricio et.al., 1999).

Anexo 1. Análisis de varianza de la materia seca a las (24 horas) de digestibilidad *in vitro* (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*).

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrado de la media (CM)	F-Valor	Pr > F
Tratamientos de ME	4	164,85	41,212	14,32	<.0001**
Edad de corte	2	580,78	290,39	100,92	<.0001**
Interacción (Trat x Edad)	8	151,003	18,875	6,56	<.0001**
Error experimental	30	86,32	2,877	-	-
Total	44	982,95	-	-	-

FUENTE: ANÁLISIS ESTADÍSTICO ADEVA.
ELABORADO: AUTORES.

Anexo 2. Análisis de varianza de la materia seca a las (48 horas) de digestibilidad *in vitro* (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*).

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrado de la media (CM)	F-Valor	Pr > F
Tratamientos de ME	4	45.26	11.31	11.56	<.0001**
Edad de corte	2	175.85	87.92	89.84	<.0001**
Interacción (Trat x Edad)	8	69.02	8.62	8.82	<.0001**
Error experimental	30	29.36	0.978	-	-
Total	44	319.51	-	-	-

FUENTE: ANÁLISIS ESTADÍSTICO ADEVA.
ELABORADO: AUTORES.

Anexo 3. Análisis de varianza de la producción de gas a las (3 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*).

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrado de la media (CM)	F-Valor	Pr > F
Tratamientos de ME	4	1.22	0.305	0.33	0.8562 NS
Edad de corte	2	707.56	353.78	381.38	<.0001**
Interacción (Trat x Edad)	8	13.978	1.747	1.88	0.1001 NS
Error experimental	30	27.83	0.927	-	-
Total	44	750.59	-	-	-

FUENTE: ANÁLISIS ESTADÍSTICO ADEVA.
ELABORADO: AUTORES.

Anexo 4. Análisis de varianza de la producción de gas a las (6 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*).

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrado de la media (CM)	F-Valor	Pr > F
Tratamientos de ME	4	9.95	2.48	0.73	0.5807 NS
Edad de corte	2	1148.17	574.08	167.64	<.0001**
Interacción (Trat x Edad)	8	17.78	2.22	0.65	0.7305 NS
Error experimental	30	102.73	3.42	-	-
Total	44	1278.65	-	-	-

FUENTE: ANÁLISIS ESTADÍSTICO ADEVA.
ELABORADO: AUTORES.

Anexo 5. Análisis de varianza de la producción de gas a las (12 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*).

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrado de la media (CM)	F-Valor	Pr > F
Tratamientos de ME	4	20.60	5.15	0.52	0.7227 NS
Edad de corte	2	3060.34	1530.17	154.06	<.0001**
Interacción (Trat x Edad)	8	182.66	22.83	2.30	0.0471 NS
Error experimental	30	297.97	9.93	-	-
Total	44	3561.57	-	-	-

FUENTE: ANÁLISIS ESTADÍSTICO ADEVA.
ELABORADO: AUTORES.

Anexo 6. Análisis de varianza de la producción de gas a las (24 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*).

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrado de la media (CM)	F-Valor	Pr > F
Tratamientos de ME	4	874.52	218.63	4.73	0.0045 **
Edad de corte	2	13902.50	6951.25	150.25	<.0001**
Interacción (Trat x Edad)	8	1486.42	185.80	4.02	0.0024 **
Error experimental	30	1387.92	46.26	-	-
Total	44	17651.37	-	-	-

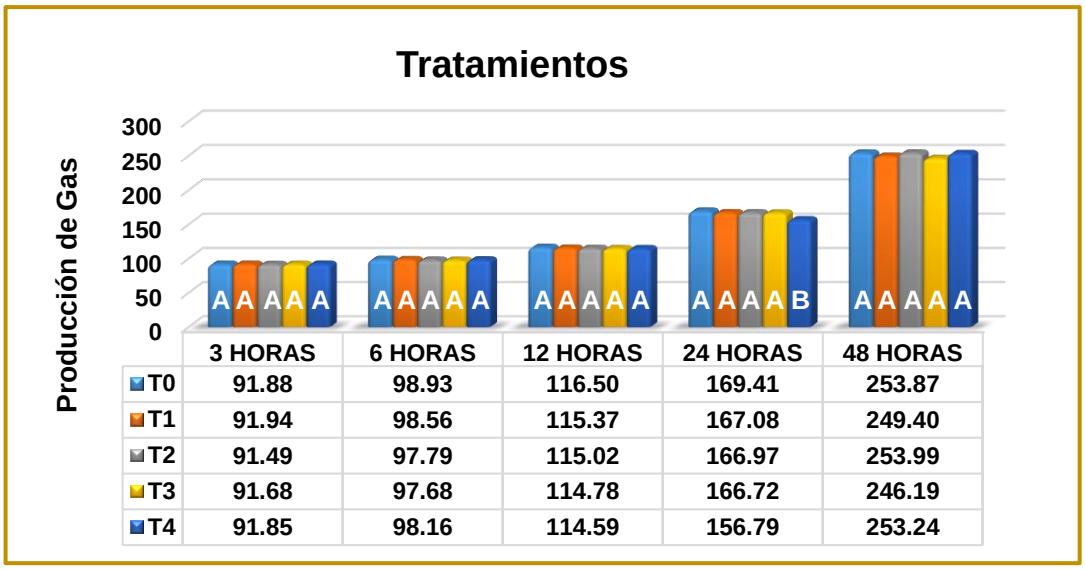
FUENTE: ANÁLISIS ESTADÍSTICO ADEVA.
ELABORADO: AUTORES.

Anexo 7. Análisis de varianza de la producción de gas a las (48 horas) de (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*).

Fuente de variación (FV)	Grados de libertad	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrado de la media (CM)	F-Valor	Pr > F
Tratamientos de ME	4	425.56	106.39	0.92	0.4648 NS
Edad de corte	2	39596.89	19798.44	171.36	<.0001**
Interacción (Trat x Edad)	8	800.49	100.06	0.87	0.5551 NS
Error experimental	30	3466.18	115.53	-	-
Total	44	44289.13	-	-	-

FUENTE: ANÁLISIS ESTADÍSTICO ADEVA.
ELABORADO: AUTORES.

Anexo 8. Producción de gas de la (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*), con sus diferentes tratamientos.



Anexo 9. Producción de gas de la (DIVMS) del Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*), con las distintas edades de corte.

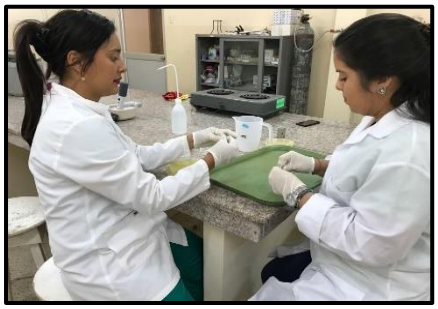
EDAD DE CORTE	3 HORAS	6 HORAS	12 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	P valor.
15 DIAS	87.14 [c]	91.35 [c]	105.00 [c]	140.69 [b]	209.46 [b]	P:<.0001 **
30 DIAS	96.82 [a]	103.36 [a]	125.20 [a]	175.40 [a]	270.06 [a]	<.0001 **
45 DIAS	41.54 [b]	99.95 [b]	115.55 [a]	180.10 [a]	247.49 [a]	<.0001 **

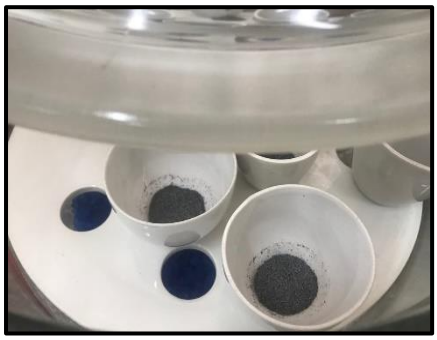
Anexo 10. Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) para el corte de tres edades (15, 30 y 45 días), sembrado y recolectado en la Hacienda "La Soledad" del Cantón Chone, parroquia Eloy Alfaro del sitio Calibre.

Anexo 11. Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) ubicado en bandejas para el deshidratado.

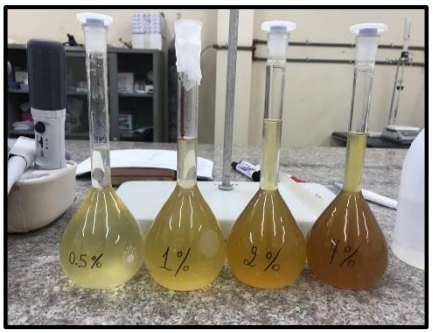
Anexo 12. Pasto Saboya (*Megathyrsus maximus*) molido luego de haberse deshidratado.

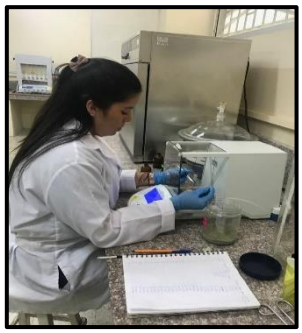
Anexo 13. Procedimiento para obtener proteína cruda (PC), FDN, FDA, lignina y ceniza.





Anexo 14. Saliva artificial, Microorganismos eficientes con la solución madre, peso del pasto molido y depositado en los frascos ámbar.

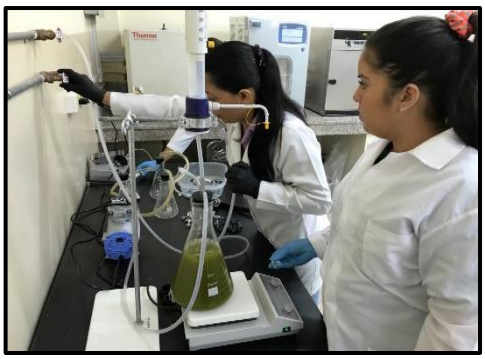
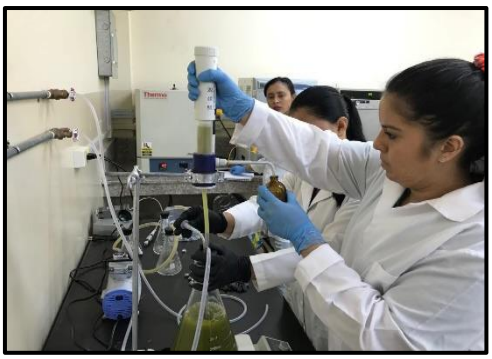




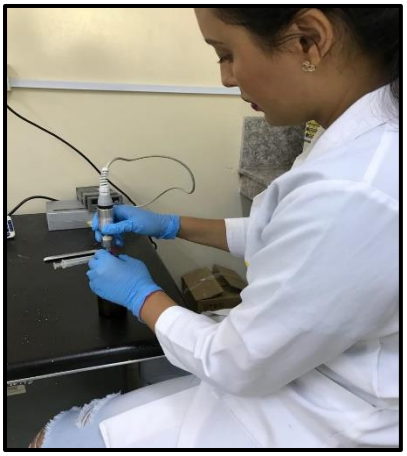
Anexo 15. Preparación y resultado de la incubación del experimento.

Anexo 16. Vaca fistulada y obtención del licor ruminal.

Anexo 17. Agitador, dosificador y gaseado de frascos ámbar para la incubación de la producción de gas *in vitro* (PGiv).

Anexo 18. Toma de (PGiv) en 3, 6, 12, 24 y 48 horas. Filtración de la incubación utilizando crisoles de Gooch.



Anexo 19. Entrega de la obra a las autoridades de la Facultad de Ciencias Veterinarias.