

## Comportamiento ingestivo y ambiente ruminal de ovinos alimentados únicamente con una pastura en estabulación o a pastoreo

### Feeding behavior and ruminal environment of lambs fed only pasture indoors or grazing

Pérez-Ruchel A<sup>1</sup>, Repetto JL<sup>2</sup>, Cajarville C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Nutrición, Facultad de Veterinaria - Instituto de Producción Animal- UdelaR, Ruta 1 km 42.500, CP 80100, San José, Uruguay.

<sup>2</sup>Departamento de Bovinos, Facultad de Veterinaria - Instituto de Producción Animal- UdelaR.

\*Autor para correspondencia: A. Pérez Ruchel (anapevet@gmail.com).

Veterinaria (Montevideo) Volumen 54  
Nº 207 (2017) 32-38

Recibido: 23 Mayo 2017  
Aceptado: 31 Agosto 2017

#### Resumen

Se estudió el efecto de 2 métodos de suministro de forraje fresco (estabulación vs. pastoreo) en ovinos. Doce borregos alimentados únicamente con forraje fresco (predominantemente *Lotus corniculatus*) durante 6 h por día fueron distribuidos en 2 grupos: forraje cortado y ofrecido a animales en estabulación (E) o a pastoreo (P). Se estudió el comportamiento ingestivo, pH y concentraciones de amoníaco (N-NH<sub>3</sub>) en rumen, y actividad del líquido ruminal mediante la técnica de producción de gas *in vitro*. El comportamiento ingestivo de los borregos, en particular, el tiempo destinado a la rumia, fue diferente según el tratamiento. Los borregos a pastoreo dedicaron menos tiempo rumiando que los borregos estabulados (valores promedio: 49 y 4 minutos durante las primeras 6 horas en relación al inicio de la comida, E y P respectivamente,  $P=0,004$ ). El pH ruminal no fue afectado por el método de suministro de forraje (valores promedio: 6,94 y 6,62; E y P respectivamente,  $P=0,715$ ) pero los borregos a pastoreo presentaron mayores concentraciones de N-NH<sub>3</sub> (valores promedio: 23,5 y 30,1 mg/dL, E y P respectivamente,  $P<0,001$ ). La actividad *in vitro* del líquido ruminal de los borregos estabulados y a pastoreo fue similar (volumen de gas promedio hasta la hora 96 de incubación: 205 y 169 mL/MS incubada, E y P respectivamente,  $P=0,317$ ). Estos resultados sugieren que los borregos a pastoreo habrían presentado una selección más intensa de la dieta, ingiriendo mayor cantidad de hojas que los borregos estabulados, sin cambios en la actividad fermentativa ruminal.

**Palabras clave:** Rumiantes, Pastoreo, pH ruminal, Concentración de amoníaco, Producción de gas *in vitro*

#### Summary

The effect of two feeding methods (indoors vs. grazing.) was studied in ovines. Twelve lambs fed fresh forage (predominantly *Lotus corniculatus*) during 6 h per day were allocated in 2 groups: forage cut and offered to animals housed indoors (I) or at pasture (P). Feeding behavior, ruminal pH and ammonia (N-NH<sub>3</sub>) concentration, and *in vitro* ruminal liquor activity using the gas production technique were studied. The feeding behavior of the lambs was different according to the treatment, particularly, the time spent ruminating. Lambs at pasture spent less time ruminating than indoors lambs (mean values: 49 and 4 minutes during the first 6 hours relating to the meal beginning, I and P respectively,  $P=0.004$ ). Ruminal pH was not affected by the way of access to forage (mean values: 6.94 and 6.62, I and P respectively,  $P=0.715$ ) but lambs at pasture had higher N-NH<sub>3</sub> concentration (mean values: 23.5 and 30.1 mg/dL, I and P respectively,  $P<0.001$ ). The *in vitro* ruminal liquor activity of lambs indoors and at pasture was similar (mean volumes of gas until hour 96 of incubation: 205 and 169 mL/incubated DM, I and P respectively,  $P=0.317$ ). These results suggest that lambs at pasture would have presented a more intense selection of diet, eating more quantity of leaves than lambs indoors, without changes in the rumen fermentative activity.

**Keywords:** Ruminants, Grazing, Ruminal pH, Ammonia concentration, *In vitro* gas production

## Introducción

La utilización de animales alojados en jaulas individuales es una práctica común utilizada para estudiar el consumo y la digestión de pasturas. Esta herramienta permite un mejor control de las condiciones experimentales (Dumont y Petit, 1995) y provee información más exacta que con el uso de animales a pastoreo (Forbes y Mayes, 2002). Es usual que la información generada en este tipo de experimentos se traslade a los sistemas de pastoreo.

Son pocos los estudios que han comparado los resultados de ambos sistemas de alimentación, en estabulación y a pastoreo. En vacas lecheras, alimentadas únicamente con una pastura de alta calidad, en estabulación o a pastoreo, observaron que los animales a pastoreo consumieron menos materia seca (MS) (Boudon y col., 2006, 2009) y, como consecuencia, produjeron menos leche que los animales en estabulación (Boudon y col., 2009) y que el líquido ruminal de los animales a pastoreo tenía una tasa de producción de gas *in vitro* más elevada en comparación con los animales estabulados (Boudon y col., 2006). En ovinos, hasta donde sabemos, sólo se ha comparado la administración de forraje como alimento único en la dieta de los animales, en estabulación o a pastoreo, utilizando un forraje tropical con diferentes disponibilidades y en diferentes momentos de rebrote (Fanchone y col., 2010, 2012). Estos últimos autores observaron que los carneros a pastoreo dedicaban más tiempo a la ingestión pero, debido a que su velocidad de ingestión fue más lenta (Fanchone y col., 2010), lograron un menor consumo de materia orgánica (MO) que los animales estabulados (Fanchone y col. 2010, 2012). A pesar de estas diferencias, no se afectaron ni el pH ruminal ni las concentraciones de amoníaco (Fanchone y col., 2010). Es sabido que las gramíneas tropicales presentan grandes diferencias morfológicas y químicas en cuanto a las leguminosas templadas (Van Soest, 1994). Por lo tanto, es cuestionable si la similitud en las condiciones ruminales permanecería con una alimentación basada en leguminosas templadas de alta calidad. Este cuestionamiento se basa en el hecho de que existen diferencias importantes entre tallos y hojas en las leguminosas templadas (Ammar y col., 2004; Baloyi y col., 2008; Milić y col., 2011), que ambos se consumen cuando no se permite una selección, pero se debe considerar que el ovino tiene una alta capacidad para seleccionar el material que consume (Forbes y Mayes, 2002; Van Soest, 1994), situación que es facilitada por el pastoreo.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la forma de suministrar forraje fresco, cortado y ofrecido en estabulación, o cosechado mediante pastoreo directo, sobre el comportamiento ingestivo y el ambiente ruminal en ovinos alimentados con leguminosas templadas.

## Materiales y métodos

El estudio fue realizado en el Campo Experimental de Facultad de Veterinaria de la UDELAR (Departamento de San José, 34°S, 55°O), Uruguay. Todos los procedimientos que involucraron animales fueron aprobados por el Comité de Bioética de Facultad de Veterinaria (CHEA, Uruguay).

### *Diseño experimental, animales y dieta*

Doce borregos Corriedale x Milchschaf (edad: 1-2 años), con un peso vivo (PV) promedio de  $47,9 \pm 6,5$  kg, fueron alimentados únicamente con un forraje fresco. Todo el forraje utilizado durante el experimento provenía de una misma parcela con una pastura templada en estado vegetativo compuesta por 70% MS de *Lotus corniculatus*, 18% de *Trifolium* spp., 12% de otros, en base a MS, con 298 g/kg MS. Su disponibilidad fue de 2065 kg de MS/ha, y su composición química fue (g/kg MS): 886 MO, 444 fibra neutro detergente (FND), 285 fibra ácido detergente (FAD), 128 proteína bruta (PB), y 71 lignina ácido detergente (LAD). El experimento consistió en un diseño de bloques completos al azar, con 18 días de adaptación a las condiciones experimentales, y un período experimental de 9 días. Los animales fueron bloqueados por PV (6 bloques) y asignados al azar a uno de dos tratamientos: forraje cortado y ofrecido a animales estabulados (E) y forraje ofrecido a los animales alimentados mediante pastoreo directo (P). Cuatro borregos por tratamiento (correspondientes a 4 bloques) fueron fistulizados y equipados con catéteres ruminales (diámetro interno 0,5 cm). Todos los animales fueron alimentados con forraje durante un período de tiempo restringido de 6 horas por día (08:00 a 14:00 h) sin restricciones de cantidad. Los animales tuvieron acceso libre y permanente a agua. Los animales estabulados (E) fueron alojados en jaulas metabólicas individuales y alimentados con forraje cortado diariamente a las 07:00 h (a 5 cm de altura desde el suelo). Los animales a pastoreo (P) fueron individualmente atados a una estaca y llevados a pastoreo cada día (disponibilidad de pastura/animal/día: 2,5 kg de MS, 5 cm de altura desde el suelo).

### *Muestras y mediciones*

Se evaluó el comportamiento ingestivo de los animales individualmente mediante observaciones directas realizadas por observadores entrenados, los cuales fueron aleatoriamente asignados a 6 animales cada uno. Los animales de ambos tratamientos fueron observados simultáneamente, cada 3 minutos durante 12 h (desde las 08:00 a las 19:00 h) durante 1 día, el primer día desde el comienzo del período de mediciones (día 1). El comportamiento ingestivo fue categorizado como ingestión (abarcando la búsqueda, prehensión y masticación), rumia (regurgitación y re-masticación del alimento ingerido), bebida o descanso (cuando los animales no mostraban ninguna de las otras 3 actividades). Se calculó la duración (minutos totales) de cada actividad desde la hora 8:00 a las 14:00, cuando los animales tenían acceso a la pastura.

Se extrajeron muestras de líquido ruminal hora a hora durante 24 h (día 3). En cada muestra, inmediatamente luego de su extracción, se midió el pH ruminal utilizando un pH-metro digital (eChem Instruments Pte. Ltd., Oakton, Singapur). Además, se almacenaron 10 mL de cada muestra de líquido ruminal (cada extracción) que fueron congelados (-18 °C), utilizando cloruro de sodio (20%, p/v) como conservante, hasta la posterior determinación de las concentraciones de N-NH<sub>3</sub> mediante destilación directa (FAO, 1986).

La actividad fermentativa del líquido ruminal fue evaluada mediante la técnica de producción de gas *in vitro*. Para ello se extrajo líquido ruminal de cada borrego fistulizado 2 horas luego del comienzo de la ingesta (día 5) y se confeccionó una mezcla de líquido ruminal de borregos sometidos a un mismo tratamiento. Los 2 inóculos obtenidos fueron utilizados para evaluar la actividad de fermentación en 2 sustratos diferentes: *Avena sativa* (195 g/kg MS, 294 g/kg FAD, 841 g/kg PB, en base a MS) y *Lotus corniculatus* (298 g/kg MS, 285 g/kg FAD, 128 g/kg PB, en base a MS). Estos sustratos (0,5 g) fueron pesados en frascos de 125-mL. Se utilizaron 3 frascos por sustrato más 2 blancos (frascos sin sustrato para corregir la producción de gas) por cada inóculo (frascos totales = 16). En cada frasco se agregaron 40,5 mL de una solución buffer (Williams y col., 2005) y 10 mL de líquido ruminal filtrado, sellados con septa de goma y precinto metálico e incubados en un baño de agua a 39 °C durante 96 h (Mauricio y col., 1999). Todos los procedimientos de incubación fueron realizados bajo una corriente de CO<sub>2</sub>. Se registró la presión interna de los frascos a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 48, 72 y 96 h de incubación mediante un manómetro D1005PS (Ashcroft®, Stratford, USA) y una aguja hipodérmica. Luego de cada lectura el gas fue eliminado de los frascos. Los datos de presión de gas (psi) registrados fueron transformados a volumen (V) mediante la ecuación de predicción obtenida en un experimento previo:

$$V \text{ (mL)} = 4,40 P \text{ (psi)} + 0,09 P^2 \text{ (psi)}$$

La producción de gas acumulada fue calculada, a partir de los datos de presión, y ajustada al modelo:

$$\text{Gas} = a+b \{1-\exp[-kd(t-\text{lag})]\}$$

donde a+b (mL) es la producción de gas potencial, kd (h<sup>-1</sup>) es la tasa de producción de gas, y lag (h) es el tiempo de latencia.

#### Análisis químicos

Se analizaron los contenidos de MS, MO, N, FND, y FAD del forraje. Los contenidos de MS, MO, y N fueron analizados según los métodos ID 934.01, ID 942.05 e ID 955.04, respectivamente (AOAC, 1990). Los contenidos de FND y FAD fueron analizados secuencialmente (Robertson y Van Soest, 1981), utilizando un analizador de fibras Ankom (Ankom Technology Corporation, Fairport, NY, USA) y expresados incluyendo la ceniza residual. El análisis de FND fue realizado sin la utilización de amilasa.

#### Análisis estadísticos

Los datos fueron comparados entre tratamientos mediante el procedimiento MIXED del software SAS (versión 8.2; SAS Institute, Cary, NC, USA). Las actividades comportamentales de los animales fueron analizadas mediante el modelo  $Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + e_{ijk}$ , donde  $Y_{ijk}$  fue la variable dependiente,  $\mu$  fue la media general,  $T_i$  el efecto fijo del tratamiento ( $i = E$  o  $P$ ) en  $k$  réplicas animales ( $n = 6$  borregos),  $B_j$  el efecto aleatorio del bloque ( $j = 6$  bloques), y  $e_{ijk}$  el error residual. Los datos de pH y N-NH<sub>3</sub> fueron analizados como medidas repetidas sobre el animal de acuerdo al modelo  $Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_j + H_k + (TxH)_{ik} + e_{ijkl}$ , donde  $Y_{ijkl}$  fue la variable dependiente,  $\mu$  fue la media general,  $T_i$  el efecto fijo del tratamiento ( $i = E$  o  $P$ ) en  $k$  réplicas animales ( $n = 4$  borregos),  $B_j$  el efecto aleatorio del bloque ( $j = 4$  bloques);  $H_k$  el efecto fijo de la hora ( $k = 1$  a 24 horas),  $(TxH)_{ik}$  la interacción entre tratamiento y hora y  $e_{ijkl}$  el error residual. Los parámetros de producción de gas fueron comparados entre inóculos utilizando el modelo  $Y_{ijk} = \mu + i_i + s_j + (ixs)_{ij} + e_{ijk}$ , donde  $Y_{ijk}$  fue la variable dependiente,  $\mu$  fue la media general,  $i_i$  el efecto fijo del inóculo ( $i = E$  o  $P$ ) en  $k$  réplicas de frascos ( $n = 3$  frascos),  $s_j$  el efecto fijo del sustrato ( $j = \text{avena, lotus y paja}$ ),  $(ixs)_{ij}$  la interacción entre inóculo y sustrato, y  $e_{ijk}$  el error residual. Se declararon diferencias significativas cuando  $P \leq 0,05$  y valores de  $0,05 < P < 0,10$  fueron considerados como tendencias.

## Resultados

Mientras que el tiempo total invertido en la ingestión, bebida y el descanso fue similar entre los tratamientos (Cuadro I), los borregos a pastoreo permanecieron menos tiempo rumiando que los borregos estabulados durante las primeras 6 horas en relación al inicio de la comida. Cuando la duración de las actividades de ingestión, rumia y descanso, fue analizada entre las horas 7 y 12 desde el inicio de la comida, no se detectaron diferencias entre tratamientos (datos no mostrados;  $P = 0,198; 0,471$  y  $0,407$ ; respectivamente).

Las dinámicas del pH ruminal y concentraciones de N-NH<sub>3</sub> a lo largo del día se muestran en la Figura 1. Se registró una disminución progresiva del pH independientemente después del inicio de la ingesta (h 0), hasta registrarse los valores mínimos, que no se diferenciaron entre tratamientos. El valor mínimo para ambos tratamientos fue de 6,09, a las horas 12 (E) y 8 (P) ( $P > 0,05$ ). Los valores de pH promedio registrados (6,94 y 6,62 para E y P, respectivamente; EEM = 0,033;  $P = 0,715$ ) y la forma de las curvas de pH ( $P(txh) = 0,952$ ) fueron similares entre tratamientos, aunque su dinámica a lo largo del día fue dependiente de la hora en relación a la ingesta ( $P(h) < 0,001$ ). Las concentraciones de N-NH<sub>3</sub> fueron mayores en los borregos a pastoreo, los valores promedio registrados fueron 23,5 y 30,1 mg/dL (EEM = 0,941;  $P < 0,001$ ) para E y P respectivamente. Las principales diferencias que se observaron entre tratamientos fueron a las 8 - 11 y a las 14 - 17 h en relación al inicio de la comida. La forma de las curvas de N-NH<sub>3</sub> fue similar entre tratamientos

**Cuadro I.** Comportamiento ingestivo, actividades expresadas como minutos totales durante las primeras 6 h desde el inicio de la comida en borregos alimentados con forraje fresco ofrecido en estabulación (E) o a pastoreo (P).

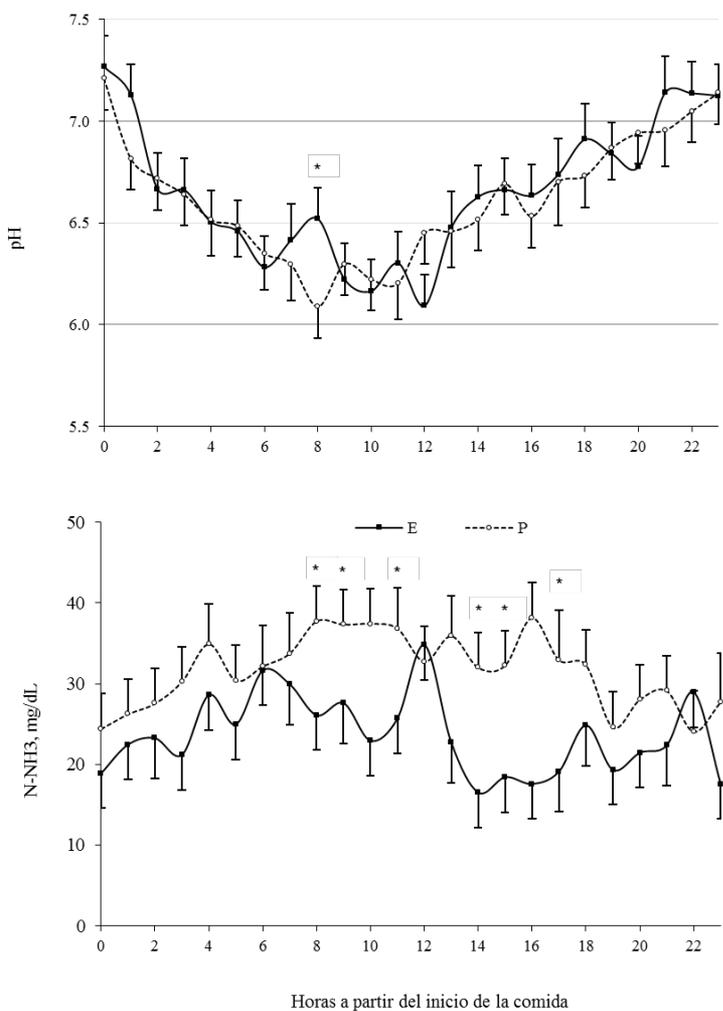
	Tratamientos		EEM	P
	E	P		
Ingestión	187	245	29,4	0,198
Rumia	49	4	8,28	0,004
Bebida	4	4	1,09	0,989
Descanso	120	107	27,8	0,756

EEM = error estándar de las medias (n= 6/tratamiento).

**Cuadro II.** Parámetros de producción de gas in vitro utilizando como inóculo líquido ruminal de borregos alimentados con forraje fresco durante 6 h/d en estabulación (E) o a pastoreo (P).

	Tratamientos		EEM	Inóculo (i)	P Sustrato (s)	i x s
	E	P				
a+b	216	202	5,822	0,135	0,017	0,434
kd	0,049	0,057	0,0015	0,008	<0,001	0,904
lag	0,28	0,38	0,0699	0,312	0,274	0,225

EEM = error estándar de las medias (n= 6/inóculo); a+b: volumen de gas (mL/gMS); kd: tasa de producción de gas (h-1); lag: tiempo de latencia (h).



**Figura 1** Dinámicas de pH y concentraciones de N-NH<sub>3</sub> en el rumen de borregos alimentados con forraje fresco, durante 6 h por día en estabulación (E) o a pastoreo (P). Valores promedio ± EEM (n=4/ tratamiento); \*: P<0,05.

( $P(txh)=0,637$ ).

El líquido ruminal de los borregos a pastoreo e incubado *in vitro* presentó una mayor tasa de producción de gas que el inóculo extraído de los borregos estabulados (EEM=0,001; P=0,008; Cuadro II). La producción de gas *in vitro* (a+b) y el tiempo de latencia (lag) fueron similares entre inóculos.

## Discusión

Es sabido que los ovinos pueden seleccionar su dieta de acuerdo a su composición química, a favor de la presencia de sustancias palatables (como azúcares solubles) o PB (Avondo y col., 2004; Forbes, 1995; Forbes y Mayes, 2002). Esta elección es realizada a través de procesos comportamentales que son manifestados si los animales no presentan restricciones en la disponibilidad del alimento (Forbes y Mayes, 2002). En este trabajo, aunque todos los animales presentaron restricción en el tiempo de acceso al forraje, durante este período no existió restricción en la disponibilidad de forraje, por lo tanto se espera que los animales hayan podido expresar libremente la selectividad antedicha. De hecho, los animales se comportaron diferente según el método de suministro de forraje. La menor duración de la actividad de la rumia que mostraron los animales a pastoreo en comparación con los animales estabulados, podría indicar la ingestión de un forraje menos fibroso (con mayor facilidad para la prehensión) y con mayor contenido de PB. En este sentido, bajo ciertas situaciones, especialmente los animales a pastoreo, seleccionarían el forraje según su facilidad de prehensión (Hodgson y col., 1994).

En este caso, la duración de la ingestión, que abarca la búsqueda y prehensión, no fue afectada por los tratamientos. Este resultado difiere de los resultados obtenidos por varios autores. Por ejemplo, cuando se estudió el gasto de energía de vacas a pastoreo y de vacas alimentadas con pastura cortada de la misma parcela (66% gramíneas) pero manejadas en estabulación y se encontró que las vacas a pastoreo dedicaron más tiempo a la ingestión y menos tiempo a la rumia respecto a las vacas estabuladas (Kaufmann y col., 2011). Asimismo, en carneros alimentados únicamente con forraje tropical a pastoreo o en estabulación, se encontró que los animales a pastoreo presentaron un mayor tiempo dedicado a comer y esto se asoció con un aumento en el tiempo de búsqueda a expensas del tiempo de prehensión (Fanchone y col., 2010).

La cantidad de materia orgánica que ingieren los animales a pastoreo puede ser limitada por factores como la habilidad para la prehensión (como por ejemplo la cantidad de forraje por bocado; Fanchone y col., 2010), la capacidad ruminal y/o la tasa de pasaje ruminal (Boudon y col., 2009). En este caso, aunque el consumo de forraje no fue evaluado, es sabido que un aumento en el consumo de alimento conduce a una disminución en el pH ruminal (Krause y Oetzel, 2006), lo que no fue detectado en este experimento. Sin embargo, la alta capacidad buffer de la pastura utilizada para este estudio (246 miliequivalentes por kg de MS), podría haber atenuado posibles fluctuaciones en el pH ruminal e,

indirectamente, diferentes niveles de consumo.

Las mayores concentraciones de N-NH<sub>3</sub> registradas en los borregos a pastoreo son consistentes con los hallazgos obtenidos en vacas lecheras alimentadas únicamente con forraje a pastoreo o en estabulación (Boudon y col., 2006), y en carneros alimentados únicamente con forraje tropical a pastoreo o en estabulación (Fanchone y col., 2010). Estos resultados podrían indicar una efectiva elección del forraje en los borregos a pastoreo, a favor de mayores contenidos de proteína degradable, como fue descrito en un trabajo anterior (Chilibroste y col., 2005). Por lo tanto, los animales a pastoreo habrían seleccionado más hojas, con menor contenido de fibra (más tiernas) y mayor contenido de proteína degradable, que los borregos estabulados.

Si consideramos que la presencia de mayores cantidades de proteína degradable en el rumen se relaciona con una menor producción de gas (Chamberlain, 1994; Fondevila y Barrios, 2001; Getachew y col., 2004), en este experimento se esperaría que, debido a la posible selección que realizaron los animales, el inóculo extraído de los animales alimentados con mayores niveles de proteína (animales a pastoreo) produjera menores volúmenes de gas *in vitro*, lo que no fue observado en este trabajo. Pero la mayor tasa de producción de gas registrada para el inóculo de los animales a pastoreo podría haberse relacionado con la selección de las porciones menos fibrosas del forraje y, por lo tanto, el ingreso al rumen de sustratos más fáciles de atacar por la microbiota.

Serían necesarios más estudios que profundicen en la actividad fermentativa del inóculo y los microorganismos ruminales, para poder interpretar los resultados con mayor precisión.

## Conclusiones

Los borregos muestran indicios de haber ingerido de forma diferente el forraje fresco ofrecido cuando se encontraron en diferentes situaciones de alimentación (en estabulación o a pastoreo). Los borregos a pastoreo rumiaron durante menos tiempo que los borregos estabulados, presentaron mayores concentraciones de amoníaco ruminal pero una similar fermentación *in vitro*. Estos resultados sugieren que los borregos a pastoreo habrían presentado una selección más intensa de la dieta ingiriendo sustratos más fáciles de atacar por la microbiota ruminal. Esta mayor selectividad cuando se encuentran en pastoreo debería ser tenida en cuenta cuando se extrapolan resultados obtenidos a partir de animales estabulados a las condiciones de pastoreo.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Florencia Sanguinetti, Germán Soldini, Luis Pérez, Manuel Michelini, Carolina Iturria, Elisa Almanza, Wilder Saavedra, por el cuidado y manejo de los animales y su contribución durante los muestreos y análisis de laboratorio, y a CSIC-UdelaR, PDT-DICyT (proyecto 78/12 y beca S/PSP/02/48) por la colaboración financiera.

---

## Bibliografía

---

1. Ammar H, Ranilla MJ, González J, López S. (2004). Seasonal variations in the chemical composition and *in vitro* dry matter digestibility of leaves and stems of two Spanish browse legumes. En: Ferchichi A (comp.), Ferchichi A (colab.). *Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieu méditerranéens*. CIHEAM, Zaragoza, pp. 293-296 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 62).
2. AOAC (1990). *Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of analysis*. 15a edición. AOAC, Arlington VA, USA.
3. Avondo M, Lutri L, Pennisi P. (2004). Feeding behaviour of Comisana rams as affected by crude protein level of concentrate. *Small Rum Res* 55: 135-140.
4. Baloyi JJ, Ngongoni NT, Hamudikuwanda H. (2008). Chemical composition and ruminal degradability of cowpea and silver leaf desmodium forage legumes harvested at different stages of maturity. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 8 (1): 1-11. Universidad Autónoma de Yucatán, México.
5. Boudon A, Acosta A, Delagarde R, Peyraud JL. (2006). Release of cell contents and comminution of particles of perennial ryegrass herbage during ingestion by dairy cows fed indoors or grazing. *Grass Forage Sci* 61: 205-217.
6. Boudon A, Peyraud JL, Faverdin P, Delagarde R, Delaby L, Chaves AV. (2009). Effect of rumen fill on intake of fresh perennial ryegrass in young and mature dairy cows grazing or zero-grazing fresh perennial ryegrass. *Animal* 3: 1706-1720.
7. Chamberlain AT. (1994). The gas production capacity of purified chemicals and feedstuffs when incubated *in vitro* with rumen microbes as a possible indicator of energy availability in the rumen. En: *British Society of Animal Production; Jubilee Winter Meeting*. Paper N° 91.
8. Chilibroste P, Gibb M, Tamminga S. (2005). Pasture characteristics and animal performance. En: Dijkstra J., Forbes J.M., France J. (Eds). *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*. CABI International, Wallingford, UK, pp 681-706.
9. Dumont B, Petit M. (1995). An indoor method for studying the preferences of sheep and cattle at pasture. *Appl Anim Behav Sci* 46: 67-80.
10. Fanchone A, Archimede H, Baumont R, Boval M. (2010). Intake and digestibility of fresh grass fed to sheep indoors or at pasture, at two herbage allowances. *Anim Feed Sci Technol* 157-158: 151-158.
11. Fanchone A, Archimede H, Delagarde R, Boval M. (2012). Comparison of intake and digestibility of fresh *Digitaria decumbens* grass fed to sheep, indoors or at pasture, at two different stages of regrowth. *Animal* 6: 1108-1114.
12. FAO (1986). Analytical methods for characterizing feed resources for ruminants. In: *Better utilization of crop residues and by-products in animal feeding: research guidelines 2. A practical manual for research workers*. Available at <http://www.fao.org/documents/en/detail/27299>.
13. Fondevila M, Barrios A. (2001). La técnica de producción de gas y su aplicación al estudio del valor nutritivo de los forrajes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 35: 197-206.
14. Forbes JM. (1995). Voluntary feed intake and diet selection in faro animals. CABI International, Wallingford, UK, p. 277.
15. Forbes JM., Mayes RW. (2002). Food choice. En: Freer, M., Dove, H. (Eds.), *Sheep nutrition*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 51-69.
16. Getachew G, Robinson PH, DePeters EJ, Taylor SJ. (2004). Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol* 111: 57-71.
17. Hodgson J, Clark DA, Mitchell RJ. (1994). Foraging behaviour in grazing animals and its impact on plant communities. En: Fahey Jr., G.C. (Ed.). *Forage quality, evaluation, and utilization*. American Society of Agronomy Inc., Madison, WI, pp. 796-827.
18. Kaufmann LD., Münger A, Rérat M, Junghans P, Görs S, Metges CC, Dohme-Meier F. (2011). Energy expenditure of grazing cows and cows fed grass indoors as determined by the <sup>13</sup>C bicarbonate dilution technique using an automatic blood sampling system. *J Dairy Sci* 94: 1989-2000.
19. Krause K, Oetzel G. (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Anim Feed Sci Technol* 126: 215-236.
20. Mauricio RM, Mould FL, Dhanoa MS, Owen E, Channa KS., Theodorou MK. (1999). A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim Feed Sci Technol* 79: 321-330.
21. Milić D, Karagić Đ, Vasiljević S, Mikić A, Mijić B, Katić S. (2011). Leaf and stem chemical composition of divergent alfalfa cultivars. *Biotechnology in Animal Husbandry* 27 (4): 1505-1511. Publisher: Institute for Animal Husbandry, Belgrade-Zemun.
22. Robertson JB, Van Soest PJ. (1981): The detergent system of analysis and its application to human foods. En: James, WPT; Theander, O. (eds.). *The analysis of dietary fiber in*

---

food. Marcel Dekker, NY, p 123.

23. Van Soest PJ. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. 2a. ed., Ithaca, Ed. Cornell University Press, p 476.
24. Williams B, Bosch M, Boer H, Verstegen M, Tamminga S. (2005). An *in vitro* batch culture method to assess potential fermentability of feed ingredients for monogastric diets. Anim Feed Sci Technol 123-124: 445-462.