

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN FENOLÓGICA Y NUTRICIONAL DE ACHICORIA  
(*Cichorium intybus*) Y LLANTÉN (*Plantago lanceolata*) PARA  
PASTOREO

por

Gonzalo MORENO LAITANO  
Sebastián Alejandro ROSAS BIANCHI

TESIS presentada como uno de  
los requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2012

Tesis aprobada por:

Director: \_\_\_\_\_

Ing. Agr. MSc. María del Jesús Marichal

\_\_\_\_\_  
Ing. Agr. PhD. Lucía Piaggio

\_\_\_\_\_  
Ing. Agr. MSc. Ana Inés Trujillo

Fecha: 17 de diciembre de 2012

Autores: \_\_\_\_\_

Gonzalo Moreno Laitano

\_\_\_\_\_  
Sebastián Alejandro Rosas Bianchi

## AGRADECIMIENTOS

Muy especialmente a nuestras familias, que no solo nos acompañaron durante toda la carrera sino también nos brindaron lo necesario para educarnos y formarnos en valores a lo largo de la vida.

A nuestras parejas y amigos por su constante contención y apoyo.

A nuestra tutora, Mariquita por su paciencia y formación brindada a lo largo de todo este trabajo.

Al personal del laboratorio de Nutrición Animal, Gabriela, Shirley y Ana, quienes nos ayudaron y participaron en todos los análisis realizados.

A Procampo por brindarnos las semillas utilizadas en el ensayo.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES .....	VII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
1.1. OBJETIVOS GENERALES.....	2
1.1.1. <u>Objetivos específicos</u> .....	2
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	3
2.1. ACHICORIA .....	3
2.1.1. <u>Descripción general de la especie</u> .....	3
2.1.2. <u>Composición química y valor nutritivo</u> .....	5
2.2. LLANTÉN .....	12
2.2.1. <u>Descripción general de la especie</u> .....	12
2.2.2. <u>Composición química y valor nutritivo</u> .....	14
2.3. PRODUCCIÓN <i>IN VITRO</i> DE GAS TOTAL Y METANO.....	18
2.4. HIPOTESIS .....	22
3. <u>MATERIALES Y METODOS</u> .....	23
3.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO .....	23
3.2. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	23
3.3. CARACTERISITCAS DEL SUELO Y CONDICIONES CLIMATICAS	23
3.3.1. <u>Temperatura</u> .....	24
3.3.2. <u>Precipitación</u> .....	25

3.4. INSTALACIÓN DEL ENSAYO .....	26
3.5. DETERMINACIONES Y METODOLOGIA UTILIZADA .....	26
3.5.1. <u>Recolección de muestras</u> .....	26
3.5.2. <u>Caracterización fenológica</u> .....	26
3.5.3. <u>Determinaciones de laboratorio</u> .....	27
3.5.3.1. Caracterización química .....	27
3.5.3.2. Digestibilidad <i>in vitro</i> de la MO .....	28
3.5.3.3. Producción de gas total y metano .....	30
3.6. ANALISIS ESTADISTICO .....	32
4. <u>RESULTADOS</u> .....	34
4.1. CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS .....	34
4.2. FRACCIONAMIENTO QUÍMICO, DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE LA MATERIA ORGÁNICA Y ENERGÍA METABOLIZABLE .....	35
4.3. CARACTERÍSTICAS PROTEICAS Y FRACCIONES PROTEICAS DE CORNELL .....	38
4.4. PRODUCCIÓN TOTAL DE GAS Y METANO .....	40
5. <u>DISCUSIÓN</u> .....	42
5.1. COMPARACIÓN ENTRE ALTURAS DE LA MISMA ESPECIE .....	42
5.2. COMPARACIÓN ENTRE LAS ESPECIES Y OTRAS FORRAJERAS .....	43
6. <u>CONCLUSIONES</u> .....	46
7. <u>RESUMEN</u> .....	47
8. <u>SUMMARY</u> .....	48

9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	49
10. <u>ANEXOS</u> .....	56

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Producción de forraje anual y acumulado, promedio de los últimos 5 ensayos de evaluación_ .....	4
2. Materia seca, cenizas y digestibilidad de la MS y la MO de la achicoria ...	5
3. Caracterización de la pared celular de la achicoria .....	7
4. Caracterización energética de la achicoria.....	9
5. Caracterización proteica de la achicoria .....	10
6. Características de cultivares de llantén .....	12
7. Materia seca, cenizas, degradabilidad y digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca de llantén.....	14
8. Caracterización de la pared celular de llantén .....	15
9. Caracterización proteica de llantén .....	16
10. Solución buffer.....	28
11. Caracterización fenológica de las plantas de achicoria y llantén a diferentes alturas de corte (15, 20 y 25 cm) .....	34
12. Materia seca, cenizas, fracciones de la fibra, digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia orgánica y aporte energético de plantas de achicoria y llantén cosechadas a 15, 20 y 25 cm de altura .....	36
13. Caracterización proteica: PC, PCIDN y fracciones proteicas de Cornell para las diferentes alturas de corte (15, 20 y 25 cm) .....	39
14. Producción total de gas y metano acumulados y por períodos para las diferentes alturas y especies .....	41

## Figura No.

1. Esquema de tratamientos y diseño experimental.....23

## Gráfico No.

1. Temperaturas promedio mensuales máxima, mínima y media durante el período del ensayo registradas para la Estación Meteorológica Prado (serie histórica 1981-2010) y la Estación Agrometeorológica Sayago (setiembre a diciembre 2011). .....24
2. Precipitación acumulada mensual histórica (1982-2012) y durante el período experimental (setiembre-diciembre 2011) registradas para la Estación Meteorológica Prado por la Estación Agrometeorológica Sayago .....25



## 1. INTRODUCCIÓN

Como forma de atenuar los desfases que se producen entre oferta y demanda de forraje en ciertas épocas del año en la producción animal bajo pastoreo, se presenta como una alternativa la implantación de cultivos con producción estival. Entre estos se encuentran la achicoria (*Cichorium intybus*) y el llantén (*Plantago lanceolata*) como especies forrajeras no tradicionales para el Uruguay.

La achicoria es una forrajera bianual, de hábito erecto con buena capacidad de crecimiento invernal (Formoso, 1995). El llantén por su parte es una especie perenne, resistente a sequías, que se adapta a un amplio rango de climas y suelos (Bertolotti, 2010).

No se cuenta con suficiente información sobre su manejo con animales. A efectos de definir esquemas de pastoreo que permitan optimizar la cantidad y la calidad del forraje cosechado, es deseable contar con descripciones que asocien las modificaciones fenológicas con los cambios relacionados a los aportes de nutrientes de las plantas (Sanderson y Wedin, 1989).

En rumiantes los procesos de fermentación microbiana de los componentes de la pared celular que se llevan a cabo en el rumen e intestino grueso, van asociados con la producción de gases de efecto invernadero y una pérdida de energía por parte del animal. Uno de ellos es el metano y por este motivo es que se considera que los rumiantes son responsables del 25% del total de las emisiones antropogénicas de gases (Soliva y Hess, 2007). Dado que no se han encontrado antecedentes que vinculen los aspectos mencionados previamente, se realizó un experimento para evaluar la correspondencia entre estados fenológicos y la cantidad y características de la pared celular, aporte proteico, digestibilidad de la materia orgánica y potencial metanogénico de la achicoria y el llantén. Esto contribuirá a un uso más eficiente de los recursos pastoriles en el país y facilitaría el desarrollo de estrategias de alimentación que permitan un pastoreo más adecuado de estas especies.

## 1.1. OBJETIVOS GENERALES

Describir fenológicamente plantas de achicoria y llantén, cuantificar sus características nutricionales y evaluar asociaciones entre ambos.

### 1.1.1. Objetivos específicos

En forraje de achicoria y llantén en estado vegetativo cosechado a 15, 20 y 25 cm de altura caracterizar fenológicamente las plantas midiendo número, largo y ancho de las hojas.

En cada uno de los momentos de cosecha, determinar la cantidad y las características de la pared celular y de los compuestos nitrogenados, el aporte de energía, la digestibilidad de la materia orgánica y la producción de gas total y metano de los forrajes cosechados.

Evaluar la asociación de las características fenológicas de las plantas con sus características nutricionales.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. ACHICORIA

#### 2.1.1. Descripción general de la especie

La achicoria (*Cichorium intybus*) si bien es conocida a nivel mundial como una hortaliza para la producción de raíz, es además utilizada para la producción de forraje destinada a la alimentación de rumiantes en pastoreo.

Se trata de una planta de la familia de las compuestas de hojas anchas con un sistema radicular pivotante muy vigoroso. Presenta un ciclo de vida anual o bianual y hábito de crecimiento que va de arrosetada a erecta. Requiere suelos fértiles (crece en suelos medios y fracasa en suelos pobres), es muy tolerante a la sequía y presenta una alta demanda de nutrientes del suelo, principalmente de nitrógeno. Se ha estudiado que existe una respuesta lineal al agregado de nitrógeno en producción de materia seca y proteína bruta por hectárea, entre los 0 y 350 kg de N/ha (Romero et al., 1988).

Es una especie rústica que se implanta con mucha facilidad entre marzo y octubre, pero presenta un crecimiento inicial lento. Dada su alta extracción de nitrógeno del suelo, se recomienda sembrarla asociada a leguminosas para reponer lo que extrae de este nutriente (Carámbula, 2007). Presenta dormancia invernal, pero demuestra un valor particular como planta forrajera de un rápido crecimiento en el período verano-otoño, principalmente bajo condiciones de déficit hídrico (Barry, 1998). A su vez para florecer requiere de vernalización, por lo tanto en siembras de primavera florece al siguiente año, demostrando una fácil auto-resiembra aún en suelos compactados.

Barry (1998) plantea un manejo del cultivo con siembras a una densidad de 4 kg de semilla por hectárea, con un óptimo cuando se siembra a poca profundidad. También describe una tolerancia de esta especie a pH de suelo que va desde 4,8 a 6,5.

El manejo correcto del pastoreo es esencial para maximizar la vida de la pastura y mantener la calidad de los forrajes. Para achicoria se considera que su producción se optimiza bajo pastoreo rotativo. Los períodos de descanso recomendados son de 25 a 30 días entre pastoreos, dependiendo estos de la

tasa de rebrote (Parish<sup>1</sup>, Li et al. 1997, Ditsch y Sears 2007, Carámbula 2007). Dependiendo de la época del año y condiciones climáticas, el primer pastoreo puede ser realizado aproximadamente 90 días después de la siembra (Ditsch y Sears, 2007) o a una altura de planta de 15 a 25 cm con una raíz principal bien establecida (Parish<sup>1</sup>, Moloney y Milne 1993, Alemseged et al. 2003), dejando un remanente de 4 a 5 cm para obtener un óptimo rendimiento (Ditsch y Sears 2007, Carámbula 2007).

Kemp<sup>2</sup>, definió el momento óptimo de pastoreo cuando la raíz alcanza el 32% del peso seco total de la planta y acumula 830 grados-día de tiempo térmico, presentando la planta en dicho momento 7 hojas desarrolladas.

En cuanto al rendimiento, en el Cuadro No. 1 se presenta información de producción de forraje en el año de siembra, segundo año y total acumulado para el cultivar de achicoria INIA Lacerta, y para especies forrajeras de interés en nuestro país. Dichos resultados son el promedio de los últimos cinco ensayos (2006 a 2011) de la evaluación de cultivares de especies forrajeras realizada por el Instituto Nacional de Semillas (INASE) y el Instituto Nacional de investigación Agropecuaria (INIA).

Cuadro No. 1. Producción de forraje anual y acumulado, promedio de los últimos 5 ensayos de evaluación

<b>Especie</b>	<b>1er año</b>	<b>2º año</b>	<b>Total 2 años</b>
	<b>Kg MS/há</b>		
<b>Achicoria</b>	7771	8340	<b>16111</b>
<b>Raigrás Perenne</b>	6313	4997	<b>11311</b>
<b>Dactylis</b>	6132	8220	<b>14352</b>
<b>Festuca</b>	5525	10375	<b>15899</b>
<b>Alfalfa</b>	4494	9981	<b>14475</b>
<b>Trébol Rojo</b>	6036	11230	<b>17266</b>

Como puede apreciarse, achicoria fue la especie que produjo más en el año de establecimiento (7771 Kg MS/ha). En el total acumulado de los 2 años,

<sup>1</sup> Parish, J. R. 2006. Chicory as a forage alternative (sin publicar).

<sup>2</sup> Kemp, P. s.f. Plantain what do we know? (sin publicar).

solo fue superada por el trébol rojo (17266 vs 16111 Kg MS/há). Dicha información deja de manifiesto su potencial para la producción de forraje.

### 2.1.2. Composición química y valor nutritivo

Cuadro No. 2. Materia seca, cenizas y digestibilidad de la MS y de la MO de la achicoria

<b>Fracción</b>	<b>Estación</b>	<b>Estado</b>	<b>Cultivar</b>	<b>Valor, %</b>	<b>Referencia</b>
<b>MS</b>	s/d	Vegetativo	s/d	10.0-15.0	Fenoglio et al. (1989).
	Otoño	s/d	Lacerta	25.3	Mieres (2004).
	Invierno	s/d	Lacerta	10.0	Mieres (2004).
	Primavera	s/d	Lacerta	13.7	Mieres (2004).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	12.7	Marichal (2009).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	8.77	Marichal <sup>3</sup> .
	Verano	Vegetativo	Puna	19.0	Kusmartono et al. (1997).
	Verano	s/d	Lacerta	17.5	Mieres (2004).
<b>Cenizas (base seca)</b>	s/d	s/d	Puna	15.8	Kusmartono et al. (1997).
	Otoño	s/d	Lacerta	21.2	Mieres (2004).
	Invierno	s/d	Lacerta	18.6	Mieres (2004).
	Primavera	s/d	Lacerta	20.1	Mieres (2004).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	12.9	Marichal et al. (2010).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	13.6	Marichal <sup>3</sup> .
	Verano	s/d	Lacerta	15.8	Mieres (2004).
	Verano	Vegetativo	Puna	15.8	Kusmartono et al. (1997).
<b>DIVMS</b>	Otoño	s/d	Lacerta	84.7	Labreveux et al. (2006).
	Invierno	s/d	Puna	84.8	Fraser y Rowarth (1996).
	Primavera	s/d	Lacerta	81.6	Labreveux et al. (2006).
	Verano	s/d	Lacerta	82.6	Labreveux et al. (2006).
<b>DIVMO</b>	Primavera	s/d	Puna	56.7	Turner et al.

<sup>3</sup> Marichal, M. s.f. Caracterización química de achicoria (sin publicar).

					(1999).
	s/d	Vegetativo	Puna	82.0	Kusmartono et al.
	s/d	Vegetativo	Puna	85.0	(1997).
					Barry (1998).

MS: materia seca, DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la materia seca; DIVMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica.

Para achicoria se presenta en el cuadro No. 2 valores de materia seca (MS) y cenizas (C) en el rango de 9 a 25 y 13 a 21% respectivamente; con valores de 9 a 14 y 13 a 20% en primavera respectivamente (Marichal<sup>3</sup>, Fenoglio et al. 1989, Kusmartono et al. 1997, Barry 1998, Mieres 2004, Marichal 2009). Barry (1998), comparó achicoria con raigrás perenne y trébol rojo, encontrando para la achicoria mayores contenidos de cenizas que las otras especies evaluadas (15, 11 y 10% para achicoria, raigrás perenne y trébol rojo, respectivamente).

Fraser y Rowarth (1996), Labreuve et al. (2006), publicaron valores de digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) que van desde 82 (primavera) a 85% (invierno); y para la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO), Turner et al. (1999), obtuvieron un valor para primavera de 57%. Barry (1998), plantea que la DIVMO de los estados vegetativos de la achicoria permanece relativamente constante con un valor de 85% a lo largo de toda la estación de crecimiento, mientras que las pasturas de raigrás perenne-trébol blanco presentan un pico con 85% en primavera, 70% en verano y 78% en otoño.

Según Kusmartono et al. (1997), la reducción de partículas durante la rumia fue mucho más rápida para la achicoria que para el raigrás perenne. Los estudios en ciervos reflejaron que los animales que consumieron achicoria requirieron mucho menos tiempo de rumia (la mitad de los mismos no mostraron ni siquiera rumia), lo que permitiría un mayor consumo de forraje. Esto sugiere que luego de que la achicoria ha sido masticada y tragada, se desintegra extremadamente rápido en el rumen, probablemente por la alta relación entre los carbohidratos fermentables y los carbohidratos estructurales y el bajo contenido de sílice. Esto se debe a que presenta menos soporte por parte de carbohidratos estructurales y un mayor soporte por pectinas como "cemento intracelular", la cual parece degradarse muy rápido en el rumen dado por una ruptura rápida de las partículas. Este autor reporta un contenido de pectinas para achicoria en verano de 9,6% y para el raigrás perenne en esta misma época de 1,4%; generando una tasa de pasaje del rumen mucho más

rápida (menor tiempo de retención en este compartimento) para la achicoria que para el raigrás perenne, tanto para la fase líquida como para la fase sólida. Kusmartono et al. (1997), establecen que la DIVMO es superior para la achicoria que para el raigrás perenne en estado vegetativo (82% y 74%, respectivamente), aún cuando la digestibilidad de la FDN de la achicoria fue menor que la del raigrás perenne (68 y 76%, respectivamente). Estos autores establecen que estas diferencias pueden deberse a cambios en el pH ruminal. En animales alimentados con raigrás perenne el pH fue de 6,4, mientras que en animales alimentados con achicoria el pH ruminal fue de 5,6, lo que puede restringir la actividad de los microorganismos del rumen que degradan la celulosa y la hemicelulosa.

El consumo voluntario (CV) de los animales estudiados fue generalmente superior para los animales que pastorearon achicoria que para los que pastorearon el raigrás perenne, con mayores diferencias en el período verano-otoño que para la primavera. Este alto CV junto a la alta digestibilidad aparente puede estar explicando por el alto valor nutritivo de la achicoria (Kusmartono et al., 1997).

Cuadro No. 3. Caracterización de la pared celular de la achicoria

Fracción	Estación	Estado	Cultivar	Valor, %	Referencia
<b>FDN *</b>	s/d	Vegetativo	s/d	38.0-46.0	Fenóglío et al. (1989).
	s/d	s/d	Puna	37.1	Scale et al. (1995).
	Otoño	s/d	Lacerta	40.6	Mieres (2004).
	Otoño	Vegetativo	Lacerta	32.0	Crespi et al. (2011).
	Otoño	s/d	Lacerta	30.6	Labreveux et al. (2006).
	Invierno	s/d	Lacerta	36.6	Mieres (2004).
	primavera	s/d	Lacerta	37.9	Labreveux et al. (2006).
	primavera	s/d	Lacerta	32.5	Mieres (2004).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	33.1	Marichal (2009).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	28.6	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	32.8	Marichal <sup>3</sup> .
	primavera	s/d	Puna	48.8	Turner et al. (1999).
	Verano	s/d	Lacerta	43.8	Mieres (2004).
	Verano	s/d	Lacerta	26.9	Labreveux et al. (2006).
	Verano	Vegetativo	Puna	22.9	Kusmartono et al. (1997).
<b>Pectina</b>	Verano	Vegetativo	Puna	9.6	Kusmartono et al. (1997).
<b>Celulosa</b>	primavera	s/d	Puna	11.3	Fraser y Rowarth (1996).

	Verano	Vegetativo	Puna	13.7	Kusmartono et al. (1997).
<b>Hemicelulosa</b>	primavera	s/d	Puna	2.3	Fraser y Rowarth (1996).
	Verano	Vegetativo	Puna	5.9	Kusmartono et al. (1997).
<b>FDA</b>	Otoño	s/d	Lacerta	37.3	Mieres (2004).
	Invierno	s/d	Lacerta	31.6	Mieres (2004).
	primavera	s/d	Lacerta	28.9	Mieres (2004).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	25.1	Marichal (2009).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	23.8	Marichal <sup>3</sup> .
	primavera	s/d	Puna	31.1	Turner et al. (1999).
	Verano	s/d	Lacerta	34.0	Mieres (2004).
	Verano	Vegetativo	Puna	16.9	Kusmartono et al. (1997).
	<b>Lignina</b>	s/d	s/d	Puna	4.3
primavera		Vegetativo	Lacerta	8.2	Marichal <sup>3</sup> .
primavera		s/d	Puna	3.3	Fraser y Rowarth (1996).
Verano		Vegetativo	Puna	3.4	Kusmartono et al. (1997).

\* %, todos los valores están expresados en base seca; FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido.

Los valores de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) se encuentran en un amplio rango, que va desde 23 a 49 y de 17 a 37% respectivamente; siendo para primavera de 29 a 49 y 24 a 31% respectivamente (Marichal<sup>3</sup>, Scale et al. 1995, Kusmartono et al. 1997, Turner et al. 1999, Mieres 2004, Labreuve et al. 2006, Marichal 2009, Crespi et al. 2011) (Cuadro No. 3). Kusmartono et al. (1997), informan valores de FDN y FDA para raigrás perenne similares a los reportados por Marichal (2009) para trébol rojo (46; 26; 45 y 27%, respectivamente), ambos en estado vegetativo. Estos datos se encuentran dentro de los rangos encontrados para achicoria. Marichal (2009), plantea valores menores en raigrás bianual (*Lolium multiflorum*), con 42% de FDN y 21% de FDA.

En cuanto al contenido de lignina, el mínimo y máximo valor reportado corresponde a la primavera y va desde 3 a 8% (Marichal<sup>3</sup>, Scale et al. 1995, Fraser y Rowarth 1996, Kusmartono et al. 1997). Comparándolo con trébol rojo, este presenta un contenido de lignina de 8% y el raigrás bianual 1%, siendo este último inferior a achicoria (Marichal, 2009) al igual que el raigrás perenne con un 2% (Kusmartono et al., 1997).



Cuadro No. 4. Caracterización energética de la achicoria

Fracción	Estación	Estado	Cultivar	Valor Mcal/Kg MS	Referencia
<b>EM</b>	s/d	Vegetativo	Puna	2.8	Barry (1998).
	otoño	s/d	Lacerta	2.2	Mieres (2004).
	invierno	s/d	Lacerta	2.7	Mieres (2004).
	primavera	s/d	Lacerta	2.8	Mieres (2004).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	2.2	Marichal (2009).
	verano	s/d	Lacerta	2.5	Mieres (2004).
<b>EN I</b>	otoño	s/d	Lacerta	1.3	Mieres (2004).
	invierno	s/d	Lacerta	1.6	Mieres (2004).
	primavera	s/d	Lacerta	1.7	Mieres (2004).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	1.4	Marichal (2009).
	verano	s/d	Lacerta	1.5	Mieres (2004).
<b>EN m</b>	otoño	s/d	Lacerta	1.3	Mieres (2004).
	invierno	s/d	Lacerta	1.6	Mieres (2004).
	primavera	s/d	Lacerta	1.7	Mieres (2004).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	1.4	Marichal (2009).
	verano	s/d	Lacerta	1.5	Mieres (2004).
<b>EN g</b>	otoño	s/d	Lacerta	0.6	Mieres (2004).
	invierno	s/d	Lacerta	0.9	Mieres (2004).
	primavera	Vegetativo	Lacerta	0.8	Maricha (2009).
	primavera	s/d	Lacerta	1.0	Mieres (2004).
	verano	s/d	Lacerta	0.8	Mieres (2004).

EM: energía metabolizable, EN I: energía neta de lactación, EN m: energía neta de mantenimiento, EN g: energía neta de ganancia

La información recabada de energía metabolizable (EM) reporta datos que van desde 2,2 a 2,8 Mcal/KgMS, ambos para primavera. En cuanto a la energía neta para mantenimiento (EN m) lactación (EN I) y ganancia de peso (EN g), los valores van desde 1,34 a 1,72; 1,34 a 1,69 y 0,62 a 1,00 Mcal/Kg MS respectivamente y para primavera 1,44 a 1,72; 1,36 a 1,69 y 0,85 a 1,00 Mcal/Kg MS respectivamente (Mieres 2004, Marichal 2009).

Según Barry (1998), la concentración de energía metabolizable para la achicoria es alta en estado vegetativo con valores de 2,8 Mcal/Kg MS en relación a 2,6 Mcal/Kg MS en el raigrás perenne, según este autor se corresponde con una relación entre carbohidratos fermentables y carbohidratos

estructurales particularmente baja para el raigrás perenne y alta para la achicoria.

Cuadro No. 5. Caracterización proteica de la achicoria

Fracción	Estación	Estado	Cultivar	Valor, %	Referencia
<b>PC</b> *,#	s/d	Vegetativo	s/d	15.0-20.0	Fenóglío et al. (1989).
	s/d	s/d	Puna	13.2	Scale et al. (1995).
	Otoño	s/d	Lacerta	15.7	Mieres (2004).
	Otoño	Vegetativo	Lacerta	14.3	Crespi et al. (2011).
	Otoño	s/d	Puna	15.6	Labreveux et al. (2006).
	Invierno	s/d	Lacerta	20.3	Mieres (2004).
	Invierno	s/d	Puna	24.3	Fraser y Rowarth (1996).
	Primavera	s/d	Lacerta	16.6	Mieres (2004).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	18.8	Marichal (2009).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	16.6	Crespi et al. (2011).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	17.9	Marichal <sup>3</sup> .
	Primavera	s/d	Puna	19.0	Labreveux et al. (2006).
	Primavera	s/d	Puna	20.2	Turner et al. (1999).
	Primavera	Vegetativo	Puna	18.3	Volesky (1996).
	Verano	s/d	Lacerta	14.5	Mieres (2004).
Verano	s/d	Puna	18.4	Labreveux et al. (2006).	
Verano	Vegetativo	Puna	16.4	Kusmartono et al. (1997).	
<b>PCIDN</b> <sup>#</sup>	Primavera	Vegetativo	Lacerta	8.6	Marichal <sup>3</sup> .
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	12.2	Marichal (2009).
<b>PCIDA</b> <sup>#</sup>	Primavera	Vegetativo	Lacerta	4.1	Marichal <sup>3</sup> .
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	6.8	Marichal (2009).
<b>FSN</b>	s/d	Vegetativo	Lacerta	36.0	Crespi et al. (2011).
<b>FPDN</b>	s/d	Vegetativo	Lacerta	76.0	Crespi et al. (2011).
<b>Kd</b>	Otoño	Vegetativo	Lacerta	0.14	Crespi et al. (2011).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	0.31	Crespi et al. (2011).
<b>DEN</b>	Otoño	Vegetativo	Lacerta	79.0	Crespi et al. (2011).
	Primavera	Vegetativo	Lacerta	85.0	Crespi et al. (2011).

# Valores expresados en base seca; PC: proteína cruda, PCIDN: proteína cruda indigestible en detergente neutro, PCIDA proteína cruda indigestible en detergente ácido, FSN: fracción soluble del nitrógeno, FPDN: fracción potencialmente degradable del nitrógeno, kd: tasa de degradación, DEN: degradación efectiva del nitrógeno.

Para la proteína cruda (PC) los valores van desde 13 a 24%, siendo el mínimo en primavera de 17% y el máximo de 20% (Fenoglio et al. 1989, Volesky 1996, Fraser y Rowarth 1996, Kusmartono et al. 1997, Turner et al. 1999, Mieres 2004, Labreveux et al. 2006, Marichal 2009, Crespi et al. 2011).

La achicoria presentó menores contenidos de PC que el raigrás perenne y trébol rojo (12, 28 y 29%, respectivamente; Barry, 1998).

Barry (1998), comparó achicoria con *Dactylis* (*Dactylis glomerata*) estableciendo que tanto el nitrógeno consumido como la concentración de amonio en rumen fueron bajos para corderos pastoreando achicoria en relación a *Dactylis*, como una consecuencia de la baja concentración de N en la primera (1,9% N). Sin embargo, a pesar de la baja ingesta de N, el flujo duodenal de nitrógeno no amoniacal fue similar para corderos pastoreando los dos forrajes. Una de las razones de la reducida pérdida de nitrógeno en rumen, con achicoria, puede ser a causa del incremento en la producción de proteína microbiana, por el incremento de la tasa de pasaje ruminal para la fase líquida con un mayor pasaje de proteína microbiana hacia el duodeno.

En lo que respecta al nitrógeno que estaría formando parte de la pared, se reportaron valores de proteína cruda indigestible en detergente neutro (PCIDN) y proteína cruda indigestible en detergente ácido (PCIDA) en primavera de 9 y 12% (Marichal<sup>3</sup>); 4 y 7% (Marichal et al., 2010). Comparándola con otras forrajeras, la achicoria presenta una mayor proporción de nitrógeno indigestible (2,2 y 2,4% para trébol rojo y raigrás bianual, respectivamente). En cuanto a la PCIDN presenta un contenido similar que el raigrás bianual (15%) pero mayor que el trébol rojo (4%) (Marichal, 2009).

La degradabilidad efectiva del nitrógeno (DEN) es mayor para la primavera que para el otoño (85 y 79%, respectivamente; Crespi et al., 2011).

## 2.2. LLANTÉN

### 2.2.1. Descripción general de la especie

El llantén (*Plantago lanceolata*) es una herbácea perenne de amplia distribución en climas templados, buen productor de forraje estival, a pesar de ser considerada en muchas situaciones como maleza. Es de rápido establecimiento, aunque puede estar limitado por la competencia de otras especies. Admite un rango de pH de suelo entre 4,2 a 7,8 y se adapta a suelos de texturas variadas exceptuando aquellos extremadamente arcillosos o salinos (Mendiburu et al., 2006).

El llantén forrajero es una especie menos difundida que la achicoria, presentando un crecimiento de porte erecto, a diferencia de la especie silvestre que presenta formación de roseta desde la base. El cultivar Ceres Tonic ha sido introducido recientemente en Uruguay, por lo que resulta de interés conocer su potencial productivo en relación a los diferentes estados fenológicos de la fase vegetativa, especialmente en verano (período crítico en la producción de forraje tanto para producción de lana, leche y carne).

En el siguiente cuadro se presenta información de los diferentes cultivares comerciales y el tipo silvestre de llantén.

Cuadro No. 6. Características cultivares de llantén

	Cultivar		
	Grasslands lancelet	Ceres Tonic	Tipo silvestre
<b>Hábito de crecimiento</b>	semi erecto	muy erecto	postrado pequeñas a medianas
<b>Tamaño de hoja</b>	medio a largo	muy largas	medianas
<b>Número de tallos</b>	Alto	medio	medio a alto
<b>Crecimiento invernal</b>	Bajo	Alto	muy bajo
<b>Crecimiento estival</b>	Alto	Alto	bajo

Fuente: Stewart (1996).

El cultivar Ceres Tonic se ha ido seleccionado por su hábito de crecimiento muy erecto y sus hojas muy largas (Cuadro No. 2), pero presenta como desventaja una baja plasticidad bajo pastoreos intensos (Stewart, 1996).

Según Stewart (1996), se desarrolla en condiciones de baja fertilidad, particularmente en fósforo y potasio, aunque responde al agregado de nitrógeno. Con una competitividad dependiente de la fertilidad del suelo, destacándose en aquellos ambientes de baja fertilidad.

Mendiburu (2006), plantea que los incrementos en densidad de siembra para esta especie (*Plantago lanceolata* cv Ceres Tonic) sobre 4 kg de semilla/ha, no determinan incrementos en la acumulación de biomasa total ni en su distribución total. Presentando una acumulación de forraje estacional en otoño, invierno, primavera y verano de 2,0; 40,5; 43,0; 14,5% del total respectivamente. A su vez la describe como una especie de fácil implantación.

Es tolerante al déficit hídrico y altas temperaturas (Mendiburu et al., 2006). Resulta altamente palatable para el ganado ovino y bovino, pudiendo resultar sobrepastoreado en mezclas con otras especies (Sanderson et al., 2003).

Kemp<sup>2</sup>, estableció que cuando la raíz alcanza el 8% del peso seco total de la planta y acumula 725 grados-día se da el momento óptimo para el pastoreo. Este momento coincide cuando la planta presenta 6 hojas desarrolladas. Al igual que la achicoria la intensidad de pastoreo recomendada es hasta los 5 cm a nivel de suelo, obteniéndose una mejor producción y valor nutritivo para pastoreo con corderos. Ayala et al. (2011), plantean incrementos en la materia seca total de llantén en primavera y verano cuando los intervalos de pastoreo se realizaron cada 21 días en invierno, comparado con pastoreos cada 42 días. En lo que respecta a la intensidad de defoliación encontraron que solo afectó la producción estival cuando se pastoreó hasta los 2 cm de altura sobre el nivel del suelo, no encontrándose diferencias con las alturas de 7 a 12 cm.

En cuanto a la producción de forraje, la información disponible es escasa. Ayala et al. (2006) estudiaron la adaptación de esta especie a las lomadas del Este en la unidad Experimental Palo a Pique, INIA Treinta y Tres, así como su potencial como forrajera en el engorde de corderos durante el periodo estival. Las determinaciones en la pastura de Llantén cv. Ceres Tónico mostraron una disponibilidad de forraje al comienzo de la evaluación de 2,4 toneladas de MS/ha, con un 56% de Llantén y un 28% de restos secos. La disponibilidad promedio de forraje en los siguientes ciclos de pastoreo fue de 1,8, 1,8 y 1,7

toneladas de MS/ha. La tasa de crecimiento promedio para el período de evaluación fue de  $44,6 \pm 3,3$  Kg MS/ha/día.

Labreveux et al. (2004) midieron la productividad de achicoria (INIA Lacerta), llantén (Ceres Tonic) y *Dactylis glomerata* cv. Pennlate en primavera, obteniendo rendimientos de materia seca de 5710, 5700 y 7240 Kg MS/ha para achicoria, llantén y dactylis, respectivamente).

Entre los cultivares de llantén, rendimientos similares a *Dactylis* fueron alcanzados por el cultivar Lancelot (7350 Kg Ms/ha) en otoño y por Ceres Tonic (3150 Kg Ms/ha) en invierno.

### 2.2.2. Composición química y valor nutritivo

Cuadro No. 7. Materia seca, cenizas, degradabilidad y digestibilidad *in vitro* de la materia seca de llantén

Fracción	Estación	Estado	Cultivar	Valor, %	Referencia
<b>MS *</b>	s/d	Inicio floración	s/d	12.5	Sano et al. (2010).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	10.6	Marichal <sup>3</sup> .
<b>Cenizas Base seca</b>	s/d	Inicio floración	s/d	12.8	Sano et al. (2010).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	13.8	Marichal <sup>3</sup> .
<b>FSMS</b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	41.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	33.0	Crespi et al. (2011).
<b>FPDMS</b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	49.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	57.0	Crespi et al. (2011).
<b>Kd</b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	20.8	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	13.4	Crespi et al. (2011).
<b>DEMS</b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	79.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	72.0	Crespi et al. (2011).
<b>DIVMS</b>	Otoño	s/d	Ceres Tonic	88.4	Labreveux et al. (2006).
	primavera	s/d	Ceres Tonic	87.2	Labreveux et al. (2006).
	Hoja primavera	s/d	s/d	80.4	Fraser y Rowarth, (1996).

Tallo	primavera	s/d	s/d	58.7	Fraser y Rowarth, (1996). Labreveux et al. (2006).
	Verano	s/d	Ceres Tonic	87.3	

MS: materia seca, FSMS: fracción soluble de la materia seca, FPDMS: fracción potencialmente degradable de la materia seca, kd: tasa de degradación, DEMS: degradación efectiva de la materia seca, DIVMS: digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

En llantén se han reportado valores de MS y cenizas (C) (Cuadro No. 7) en el rango de 11 a 13 y 13 a 14% respectivamente (Marichal<sup>3</sup>, Sano et al. 2010).

Fraser y Rowarth (1996), establecen que los tallos de llantén presentan una menor DIVMS que las hojas, y que hacia fines del verano e inicio del otoño existe una mayor relación tallo/hoja.

En la cinética de la degradación de los rebrotes de llantén, Crespi et al. (2011) encontraron que la degradabilidad efectiva de la MS (DEMS) y la tasa de degradación (kd) fueron menores en primavera que en otoño (72 y 79%, 13 y 21% respectivamente).

A continuación se presenta información sobre la caracterización de la pared celular de llantén.

Cuadro No. 8. Caracterización de la pared celular de llantén

Fracción	Estación	Estado	Cultivar	Valor, %	Referencia
<b>FDN</b>	s/d	Inicio floración	s/d	31.6	Sano et al. (2010).
	otoño	s/d	Ceres Tonic	27.4	Labreveux et al. (2006).
	otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	37.6	Crespi et al. (2011).
	otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	33.3	Crespi et al. (2011).
	primavera	s/d	Ceres Tonic	39.0	Labreveux et al. (2006).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	37.8	Marichal <sup>3</sup> .
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	32.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	38.6	Crespi et al. (2011).
	verano	s/d	Ceres Tonic	31.2	Labreveux et al. (2006).
<b>Celulosa</b>					
Hoja	primavera	s/d	Lancelot	11.9	Fraser y Rowarth (1996).
Tallo	primavera	s/d	Lancelot	22.6	Fraser y Rowarth (1996).
<b>Hemicel.</b>					
Hoja	primavera	s/d	Lancelot	7.5	Fraser y Rowarth (1996).
Tallo	primavera	s/d	Lancelot	14.5	Fraser y Rowarth (1996).

<b>FDA</b>	s/d	Inicio floración	s/d	21.4	Sano et al. (2010).
	otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	23.3	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	27.9	Marichal <sup>3</sup> .
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	33.8	Crespi et al. (2011).
<b>Lignina</b>	otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	6.3	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	12.4	Marichal <sup>3</sup> .
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	15.1	Crespi et al. (2011).

FDN: fibra detergente neutro, FDA fibra detergente ácido.

En cuanto a la composición de la pared celular (Cuadro No. 8) se obtuvieron valores de FDN que van desde 27 a 39%, con valores para la primavera de 32 y 39% (Marichal<sup>3</sup>, Lavreux et al. 2006, Sano et al. 2010, Crespi et al. 2011). En cortes vegetativos, Crespi et al. (2011) encontraron diferencias según la época de corte para la característica de la fibra, en donde la FDA fue 45% superior y la lignina más del doble en primavera que en otoño.

En el cuadro siguiente se presenta la caracterización proteica de llantén según trabajos publicados por distintos autores.

Cuadro No. 9. Caracterización proteica de llantén

<b>Fracción</b>	<b>Estación</b>	<b>Estado</b>	<b>Cultivar</b>	<b>Valor, %</b>	<b>Referencia</b>	
<b>PC*<sup>#</sup></b>	s/d	Inic. Floración	s/d	14.8	Sano et al. (2010).	
	Otoño	s/d	Ceres Tonic	16.7	Labreux et al. (2006).	
	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	15.6	Crespi et al. (2011).	
	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	11.9	Crespi et al. (2011).	
	primavera	s/d	Ceres Tonic	21.0	Labreux et al. (2006).	
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	14.0	Crespi et al. (2011).	
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	17.5	Marichal <sup>3</sup> .	
	Hoja	primavera	s/d	Lancelot	20.2	Fraser y Rowarth (1996).
	Tallo	primavera	s/d	Lancelot	13.8	Fraser y Rowarth (1996).
		primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	12.8	Crespi et al. (2011).
	Verano	s/d	Ceres Tonic	21.9	Labreux et al. (2006).	
<b>PC sol<sup>#</sup></b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	19.4	Crespi et al. (2011).	
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	14.2	Crespi et al. (2011).	
<b>NNP<sup>#</sup></b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	4.2	Crespi et al. (2011).	
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	7.8	Crespi et al. (2011).	
<b>PCIDN<sup>#</sup></b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	8.0	Crespi et al. (2011).	



	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	10.9	Marichal <sup>3</sup> .
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	9.6	Crespi et al. (2011).
<b>PCIDA<sup>#</sup></b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	3.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	7.3	Marichal <sup>3</sup> .
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	7.0	Crespi et al. (2011).
<b>FSN</b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	6.0	Crespi et al. (2011).
	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	28.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	37.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	27.0	Crespi et al. (2011).
<b>FPDN</b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	86.0	Crespi et al. (2011).
	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	64.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	59.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	60.0	Crespi et al. (2011).
<b>Kd</b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	16.8	Crespi et al. (2011).
	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	11.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	10.9	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	22.0	Crespi et al. (2011).
<b>DEN</b>	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	69.0	Crespi et al. (2011).
	Otoño	Vegetativo	Ceres Tonic	70.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	84.0	Crespi et al. (2011).
	primavera	Vegetativo	Ceres Tonic	65.0	Crespi et al. (2011).

<sup>#</sup> Valores expresados en base seca. PC: proteína cruda, PC sol: proteína cruda soluble, NNP: nitrógeno no proteico, PCIDN: proteína cruda insoluble en detergente neutro, PCIDA: proteína cruda insoluble en detergente ácido, FSN: fracción soluble del nitrógeno, FPDN: fracción potencialmente degradable del nitrógeno, kd: tasa de degradación: DEN: degradación efectiva del nitrógeno.

Para la PC los valores están entre 12 y 22%, siendo en primavera de 13 y 21% (Marichal<sup>3</sup>, Fraser y Rowarth 1996, Labreuve et al. 2006, Sano et al. 2010, Crespi et al. 2011).

Crespi et al. (2011), reportan valores de PCIDN y PCIDA en primavera de 10 y 7,0%, respectivamente y Marichal<sup>3</sup> para primavera obtiene un valor similar de 11 y 7% respectivamente.

Referido a la degradabilidad del nitrógeno, la fracción soluble del nitrógeno (FSN) fue superior en primavera, lo cual puede explicarse por una mayor proporción del nitrógeno no proteico (NNP) en la proteína soluble (PS), a la inversa de lo que fue la fracción potencialmente degradable del nitrógeno

(FPDN) que podría deberse a una mayor proporción de la PC como proteína de la pared celular de más lenta degradación (Crespi et al., 2011). Registrándose una DEN para otoño de 68 a 78% y para la primavera de 65 a 68% (Crespi et al., 2011).

### 2.3. PRODUCCIÓN *IN VITRO* DE GAS TOTAL Y METANO

Se ha estimado que los rumiantes en el mundo producen 77.000.000 de toneladas de metano anualmente, constituyendo alrededor del 15% del total de las emisiones de metano en la atmósfera. El metano produce 13 kcal/g CH<sub>4</sub> y por lo tanto, 3 a 12% del consumo bruto de energía se pierde en forma de metano en función de la naturaleza de los alimentos (Lee et al., 2004). Los rumiantes pueden producir de 250 a 500 litros de metano por día. Dichos niveles estarían contribuyendo, en estimaciones de calentamiento global para los próximos 50 a 100 años, en menos de un 2% (Johnson y Johnson, 1995). Sin embargo el metano es más eficiente que el dióxido de carbono en la absorción de la energía infrarroja, lo que significa que a pesar de su muy baja concentración, su contribución al calentamiento global no es despreciable (Lee et al., 2003). La producción de metano en el rumen se produce como consecuencia de la presencia de un grupo de organismos llamados metanogénicos que residen en el retículo-rumen e intestino grueso de rumiantes. Estos organismos desempeñan un papel importante en la conversión de la materia orgánica en metano. Las proteínas, almidón y la pared celular vegetal consumida por el animal son hidrolizados a aminoácidos y azúcares simples por las bacterias, protozoos y hongos que residen en el rumen. La digestión primaria y secundaria por parte de los microorganismos de aminoácidos y azúcares produce ácidos grasos volátiles, hidrógeno, dióxido de carbono y otros productos finales. Las bacterias metanogénicas reducen el dióxido de carbono en metano, evitando la acumulación de hidrógeno. Cantidades excesivas de iones de hidrógeno o protones, cuando se permiten acumular en el ambiente del rumen, dan como resultado una disminución en el pH, y la subsiguiente inhibición de muchos organismos que son esenciales para la digestión de la fibra (Ominski y Wittenberg, 2004).

Muchos factores influyen en las emisiones de metano por parte del ganado, entre las que se encuentran: nivel de consumo del alimento, tipo de carbohidratos en la dieta, procesamiento del alimento, adición de lípidos o

ionóforos a la dieta y alteraciones en la microflora ruminal. La manipulación de estos factores puede ayudar a reducir las emisiones de metano por parte de los rumiantes (Johnson y Johnson, 1995). Por el tiempo que insume, los costos y dificultades que implican identificar y cuantificar *in vivo* la incidencia de algunos de estos factores en la producción de metano, se han adecuado e investigado el empleo de metodologías más simples que permitan evaluar posibles impactos de estos factores en la eficiencia de estrategias que permitan mitigar la emisión de metano ruminal (Soliva y Hess, 2007). Una de las técnicas empleadas para evaluar aspectos relacionados a las características de los alimentos y sus mezclas es la técnica de producción total de gas *in vitro*. Existen investigaciones que concluyen que los resultados obtenidos usando esta técnica reflejan los resultados obtenidos *in vivo*, por lo que podrían emplearse para generar bases de datos de la producción potencial de metano de dietas para rumiantes y para evaluar estrategias que permitan modificar la emisión de metano por los rumiantes (Bhatta et al. 2007, Soliva et al. 2008, Mc Geough 2011).

Lovett et al. (2004), evaluaron la producción de gas total y metano para distintos híbridos de raigrás perenne, en distintas fechas de corte y niveles de fertilización nitrogenada (0, 80 y 160 kg de N/ha). No encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) al variar la fecha de cosecha del forraje en producción de gas total y metano tanto para las 8 como las 24 hs de incubación (105 y 220, 6 y 19 ml/g MO incubada (MOi), respectivamente). En cuanto al nivel de fertilización nitrogenada, observaron que al aumentar los niveles de nitrógeno la producción de gas (114, 104 y 96 ml/g de MOi a las 8 horas y 237, 217 y 206 ml/g de MOi a las 24 horas) y de metano (6,4, 6,0 y 5,1 ml/g de MOi a las 8 y 20,0, 18,5 y 17,0 ml/g de MOi a las 24 hs) disminuyeron ( $P < 0.001$ ). Sin embargo cuando estas variables se relacionan con la desaparición de la MO, la producción no disminuye al aumentar el nivel de nitrógeno. Los autores atribuyen el descenso de la producción de metano con el incremento de los niveles de fertilización nitrogenada, a una reducción en la cantidad de sustrato para la fermentación (por un descenso de la digestibilidad de la MO), disminuyendo el contenido de fibra que se fermenta y aumentando el contenido de proteína cruda en el forraje.

Tavendale et al. (2005), estudiaron la producción de gas y metano *in vitro* de dos leguminosas *Medicago sativa* (Ms) y *Lotus pedunculatus* (Lp), bajo la presencia o ausencia de PEG (polietilen glicol, inactivador de los taninos) y BES

(ácido 2-bromo-etilsulfónico, inhibidor de la metanogénesis). Estos autores plantean la hipótesis de que la reducción en la producción de CH<sub>4</sub> observada en ensayos *in vitro* en forrajes que contienen taninos condensados (TC) fue debido al contenido de este componente en las leguminosas. El Ms produjo mayor ( $P < 0.05$ ) cantidad de metano que el Lp (28 y 19 ml/g MOi) a las 12 horas de incubación. El PEG removió el efecto de los TC en el Lp, dando mayor ( $P < 0.05$ ) producción de CH<sub>4</sub> el tratamiento Lp+PEG que el Lp (12 ml/g y 10 ml/g MOi, respectivamente). El Lp presentó la tasa de producción de metano más baja, probablemente por la presencia de TC. El PEG incrementa la producción de metano en Lp pero no en Ms (16 y 15 ml/g MO para el Ms y el Ms+PEG, respectivamente), esto apoya el argumento que el PEG no tiene efecto directo o indirecto sobre la metanogénesis. La acumulación de H<sub>2</sub> después de las 12 horas del Ms fue mayor ( $P < 0.05$ ) que para Lp (0.31 y 0.15 ml/g MOi, respectivamente). Estos autores concluyen que la inactivación de los TC por medio de la adición de PEG incrementa la formación de CH<sub>4</sub> indirectamente por el incremento en la producción de H<sub>2</sub>, el cual puede ser el resultado del incremento de la degradación de la fibra y no enteramente por una inhibición directa de la metanogénesis. Sin embargo, solamente una proporción del incremento del H<sub>2</sub> puede ser atribuido por la acción de los TC sobre los productores de H<sub>2</sub>, y la inhibición residual parece ser una inhibición directa de la metanogénesis. La acción de los TC sobre la metanogénesis puede ser atribuido a efectos indirectos, por reducir la producción de H<sub>2</sub> (y presuntamente reducir la digestibilidad de los forrajes), y por una efecto directo en la metanogénesis.

Chaves et al. (2006), realizaron una evaluación *in vitro* de la producción de metano de pasturas de diferentes localidades del oeste de Canadá, utilizando como donadores de licor ruminal vacas Holstein en lactación, alimentadas a base de una ración conteniendo 53.5% de alimentos concentrados, 41.5 % de ensilaje de planta entera de cebada y 5% de heno de alfalfa. Se evaluaron pasturas provenientes de tres localidades (Lethbridge (L), Swift Current (SC) y Brandon (B)), las cuales presentaban pasturas puras o mezclas de alfalfa (*Medicago sativa*) y gramíneas. En L se evaluó una muestra de alfalfa pura y una mezcla de agropiro (*Agropyron pectiniforme* Roem and Schult. y *Agropyron repens* L., en relación 40:60), en SC las muestras evaluadas correspondían a muestras puras de alfalfa y bromus (*Bromus biebersteinii* Roem and Schult) y en B fueron una mezcla de alfalfa (alfalfa y

bromus, en relación 40:60) y una pastura pura de bromus. Estos autores no encontraron diferencias en producción de metano para las pasturas en las diferentes localidades (18 y 16 ml/g MOi en promedio para alfalfa y gramíneas, respectivamente), pero si reportaron una mayor ( $P < 0.01$ ) producción en las pasturas de alfalfa puras que en las de gramíneas. Dichos autores establecen las diferencias encontrada a los diferentes grados de maduración que presentaban las pasturas al momento de ser cosechadas, y a diferencias entre las especies en su composición química.

Durmic et al. (2010), sobre un amplio número (128) de plantas leñosas perennes de Australia con potencial forrajero, evaluaron la producción de gas total y metano *in vitro* durante 24 horas de incubación. Con el objetivo de establecer el uso de especies forrajeras en la manipulación de la fermentación ruminal, formando mezclas de especies en la dieta o identificando componentes de plantas con bioactividad en rumen que favorezcan fermentaciones favorables tanto para la producción animal como para el medio ambiente. Dentro de este amplio rango de plantas evaluaron achicoria en estado reproductivo. Todas las especies fueron comparadas con un estándar de paja de avena (45 ml CH<sub>4</sub>/g MSi y 84 kPa de gas total), presentando producciones de metano que variaron entre 4 y 84 ml/g MSi. Del total de las pasturas, 54 especies presentaron menor producción tanto de gas como de metano dentro de las cuales se encuentra la achicoria que produjo 27 ml CH<sub>4</sub>/g MSi y 58 kPa de gas total, 52 con igual producción de las dos variables y 22 con menor producción de gas pero igual producción de metano. Solamente 5 especies presentaron igual producción de gas con menor producción de metano. Es de aquí que estos investigadores plantean evaluar estos resultados en combinación con las características agronómicas, valor nutritivo y los posibles efectos negativos sobre las funciones metabólicas de estas especies para su uso como plantas forrajeras.

Navarro-Villa et al. (2011), midieron en dos variedades de trébol rojo (Merviot y Ruttinova) y una de raigrás perenne con 2 niveles de fertilización (0 y 150 kgN/há) la desaparición de la MS, FDN, cenizas, la producción total de gas y metano en tres fechas de corte. Los valores promedio de la MS desaparecida fueron 75 y 69% para trébol rojo y raigrás respectivamente. En cuanto al contenido de FDN y cenizas los resultados obtenidos fueron de 40 y 11% en trébol rojo y 50 y 10% en raigrás, respectivamente. La MO desaparecida para raigrás sin fertilizar y fertilizado fue de 86 y 83% respectivamente, mientras que

para las variedades de trébol rojo fue de 78%. El gas total y el metano producidos por el raigrás sin fertilizar y con 150 kg N/há fue 198 y 180 ml/g MOi, y 42 y 39 ml/g MO incubada, respectivamente; y para los tréboles 167 ml/g MOi para la variedad Merviot y 163 ml/g MOi para Ruttinova, siendo la producción de metano igual para las dos variedades (38 ml/g MOi). De estos resultados los autores observaron una menor ( $P < 0.001$ ) producción de metano por parte de los tréboles comparado con el raigrás cuando se lo relaciona a la cantidad de alimento incubado, pero cuando se expresan los datos ( $P < 0.05$ ) en función de la desaparición de alimento esto se invierte, posiblemente a una mayor digestibilidad del raigrás. De este experimento se podría establecer una menor producción de metano en raigrás mediante la fertilización nitrogenada, como resultado del aumento de los contenidos de PC y  $\text{NO}_3$  que ayudarían a reducir la metanogénesis por medio de la reducción del  $\text{NO}_3$  a  $\text{NH}_3$ , disminuyendo la disponibilidad de hidrógeno en el rumen.

Meale et al. (2012), evaluaron la desaparición de la MS durante el período de incubación, la producción de gas acumulado y metano a las 24 hs de incubación *in vitro* de diferentes gramíneas tropicales y hojas de arbustos leguminosos y no leguminosos del norte de Ghana. Estas muestras de forraje corresponden a rebrotes que se obtuvieron 60 días luego de iniciada la estación lluviosa, las cuales presentaron un amplio rango en los contenidos de PC, FDN y cenizas (9 a 30%, 29 a 71%, y 5 a 11%, respectivamente). La producción de gas total varió entre 100 y 202 ml/g MOi y la de metano entre 1 y 6 ml/g MOi, observándose en cada grupo de forrajes la mayor producción de gas en aquellos que presentaron una mayor desaparición de la materia seca a las 24 horas de incubación, no observándose correlación entre la producción de metano y la cantidad de FDN.

#### 2.4. HIPOTESIS

En plantas de achicoria y llantén cosechadas en distinto momento de su estado vegetativo, las diferencias morfológicas en número, largo y ancho de hojas traen aparejados cambios en la caracterización química, digestibilidad, aporte energético y producción de gas total y metano de estas especies.

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

El trabajo se realizó en el predio experimental de la Facultad de Agronomía en Montevideo (34°50'5.16"S; 56°13'27.97"O), durante el período comprendido entre el 1º de setiembre y el 15 de diciembre de 2011.

#### 3.2 TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se evaluaron dos especies forrajeras cultivadas, achicoria (*Cichorium intybus* cv. INIA LE Lacerta) y llantén (*Plantago lanceolata* L. cv. Ceres Tonic) sembrada cada una de ellas en tres parcelas. El mismo día, se cosecharon plantas y forraje de 15, 20 y 25 cm de altura en estado vegetativo, obteniéndose un total de 6 tratamientos con 3 repeticiones por especie y altura. Los tratamientos fueron testados en un diseño de parcelas subdivididas con las parcelas principales en bloques aleatorizados (Figura No. 1).

Figura No. 1. Esquema de tratamientos y diseño experimental

Bloque						
<b>1</b>	<b>Achicoria</b>			<b>Llantén</b>		
	15	20	25	15	20	25
<b>2</b>	<b>Achicoria</b>			<b>Llantén</b>		
	15	20	25	15	20	25
<b>3</b>	<b>Achicoria</b>			<b>Llantén</b>		
	15	20	25	15	20	25

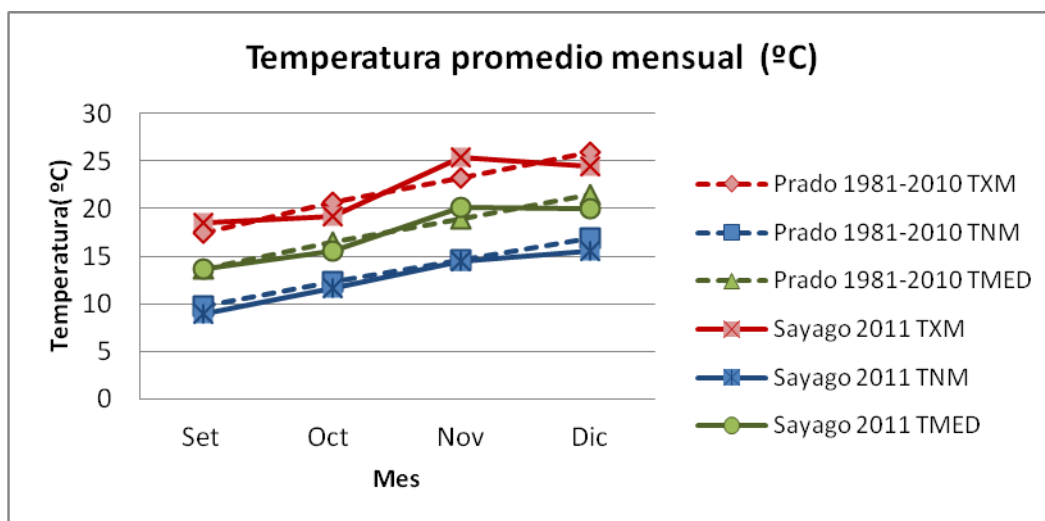
#### 3.3. CARACTERISITCAS DEL SUELO Y CONDICIONES CLIMATICAS

El ensayo se instaló sobre un suelo Brunosol Subéutrico Típico de la Serie Sayago, situada sobre la formación geológica Libertad (Bossi y Ferrando, 2001).

### 3.3.1. Temperatura

Según los datos de la serie histórica (1981-2010) brindados por URUGUAY. MDN. DNM <sup>4</sup>, para la Estación Meteorológica Prado, los promedios mensuales de temperatura máxima y mínima registrados durante el período del ensayo fueron iguales (22 y 13 °C) a los registrados por la Estación Agrometeorológica Sayago brindados por la Facultad de Agronomía. En cuanto a la temperatura media hubo un registro de 1° C menos en Sayago (17 °C) para el año del ensayo en comparación con la serie histórica (18 °C).

Gráfica No. 1. Temperaturas promedio mensuales máxima, mínima y media durante el período del ensayo registradas para la Estación Meteorológica Prado (serie histórica 1981-2010) y la Estación Agrometeorológica Sayago (setiembre a diciembre 2011)



TXM: Promedio de la Temperatura Máxima mensual promedio. (°C).

TNM: Promedio de la Temperatura Mínima mensual promedio (°C).

TMED: Promedio de la Temperatura Media mensual promedio (°C).

Como se puede observar en la gráfica No. 1, en el mes de instalación del ensayo el promedio de temperatura máxima registrada en Sayago estuvo 1,1 °C por encima de la serie histórica. En cuanto a los registros promedio de

<sup>4</sup> URUGUAY. MDN. DNM. 2012. Registros de información climática (sin publicar).



temperatura mínima y media, las diferencias fueron mínimas (9,8 y 8,9 °C; 13,6 y 13,7 °C respectivamente).

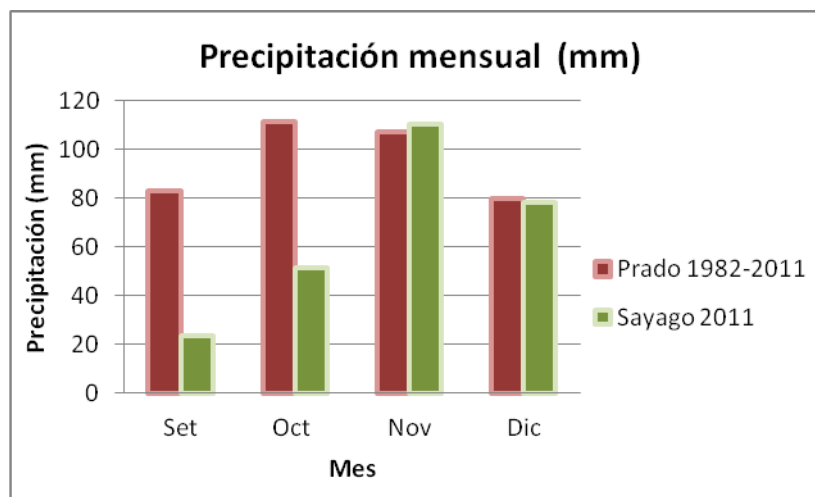
Las mayores diferencias con la serie histórica correspondieron al mes de noviembre, en donde el promedio de temperatura máxima y media fue 2,2 °C y 1,2 °C mayor durante el período del ensayo con respecto a la serie histórica.

Para los promedios de temperatura hacia el final del ensayo podemos destacar que todos los promedios de registros de temperatura, máxima, media y mínima fueron superiores para la serie histórica del orden de 1,5, 1,3 y 1,4 °C respectivamente.

### 3.3.2. Precipitación

La lluvia total acumulada en los meses que se llevo a cabo el ensayo fue 30% menor que la registrada para el promedio histórico analizado (264 vs 382 mm). Como puede observarse en el gráfica No. 2, la diferencia antes mencionada ocurre prácticamente en los meses de setiembre y octubre (etapa inicial de crecimiento de los forrajes) con casi 60 mm menos de precipitación que la serie histórica.

Gráfica No. 2. Precipitación acumulada mensual histórica (1982-2012) y durante el período experimental (setiembre-diciembre 2011) registradas para la Estación Meteorológica Prado y la Estación Agrometeorológica Sayago



En noviembre y diciembre la lluvia acumulada registrada durante el período experimental fue muy similar a los datos históricos, siendo 3 mm más y 2 mm menos respectivamente.

### 3.4. INSTALACIÓN DEL ENSAYO

La preparación de la sementera comenzó el 1<sup>o</sup> de setiembre con una aplicación de glifosato (6 l/ha) como herbicida total (480g de ingrediente activo), con el objetivo de eliminar el tapiz vegetal existente. El 13 de setiembre se procedió a laborear la tierra con tres pasadas de fresadora (herramienta de laboreo secundario); operación que se repitió previo a la siembra con la finalidad de eliminar los rebrotes de malezas a la vez de continuar con la preparación de la tierra.

El 23 de setiembre, ambas especies fueron sembradas en línea (6 Kg /ha) a 0,5 cm de profundidad, en forma manual, en 6 parcelas contiguas (6,5 x 4,0 m cada parcela; tres parcelas por especie). Se fertilizó manualmente al voleo con 100 Kg/há de nitrógeno y para ayudar la implantación de las pasturas se aplicó una lámina de riego de 20 mm de agua.

### 3.5. DETERMINACIONES Y METODOLOGIA UTILIZADA

#### 3.5.1. Recolección de muestras

El 21 de diciembre, en cada parcela se cosecharon las muestras para caracterizar fenológicamente las plantas y para realizar las determinaciones de laboratorio. El momento de la cosecha se determinó cuando las plantas alcanzaron 15, 20 y 25 cm, dejando un remanente de 5 cm por encima del nivel del suelo (Parish et al.<sup>1</sup>, Moloney y Milne 1993, Ditsch y Sears 2007, Carámbula 2007). Se definió como altura de las plantas, la altura de la hoja más alta. Las plantas se midieron con regla milimetrada y luego se cortaron manualmente con tijera.

#### 3.5.2. Caracterización fenológica

Para caracterizar fenológicamente cada especie se cosecharon 10 plantas por altura y parcela, las que fueron debidamente identificadas y guardadas en bolsas individuales para realizar las mediciones correspondientes.

Como primer criterio de caracterización se consideró el número de hojas de acuerdo a la escala individual para hortalizas de raíz y tubérculo establecida

por Feller (1995) en el sistema de codificación Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt and Chemische Industrie (BBCH), la altura de planta y la longitud promedio de las hojas de cada planta de acuerdo a lo reportado por Fiorito et al. (1989), y como criterio adicional, el ancho promedio de hojas. El sistema de codificación BBCH define 10 estadios principales que van del estadio 0.0 (germinación) al 9.9 (senescencia); siendo 1 el estadio vegetativo. Este estadio considera el desarrollo de las hojas (del tallo principal) desde el estadio 1.0 (aparición de los cotiledones) hasta 1.9 (aparición de 9 o más hojas verdaderas desplegadas (Anexo No. 1).

El ancho de cada hoja se definió tomando como referencia el mayor ancho de la hoja.

### 3.5.3. Determinaciones de laboratorio

Para las determinaciones de laboratorio se cosechó un kilogramo de material fresco para cada especie, altura de planta y parcela. Seguidamente las muestras fueron secadas en estufa de ventilación forzada a 60 °C durante 24 horas, molidas (2 mm) en un molino Wiley y almacenadas para su posterior análisis.

#### 3.5.3.1. Caracterización química

Se determinó, materia seca (MS) por secado en estufa a 105 °C durante 24 horas (AOAC, 2007). Para definir la cantidad y características de los compuestos nitrogenados se cuantificó nitrógeno total (micro-Kjeldahl) (AOAC, 2007) y para conocer la disponibilidad potencial del nitrógeno en rumen, se tomó como referencia el esquema de partición de nitrógeno del Sistema de Carbohidratos y Proteína Neta particionandose el N en cinco fracciones (A, B1, B2, B3 y C) (Sniffen et al., 1992). En este marco, se determinó nitrógeno no proteico (NNP) y nitrógeno soluble de acuerdo a Licitra et al. (1996) y nitrógeno insoluble en detergente neutro (NIDN) y nitrógeno insoluble en detergente ácido (NIDA) expresándose ambas fracciones como PCIDN y PCIDA, respectivamente, según Van Soest et al. (1991). La fracción A es NNP, la fracción B1 es proteína soluble de rápida degradación, la fracción B2 estima la proteína verdadera con una tasa intermedia de degradación y las fracciones B3 y C corresponden a N asociado a la pared celular que representan, respectivamente, proteína verdadera de lenta degradación y proteína verdadera no degradable en el rumen. Las fracción A y C se cuantifican directamente (NNP y NIDA, respectivamente) mientras que la fracción B2 se estima como la

diferencia entre el N sol y NNP, la fracción B3 como la diferencia entre NIDN y NIDA y la fracción B2 como la diferencia del N total y la suma de las demás fracciones. Para evaluar la cantidad y las características de la pared celular, se determinó secuencialmente, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina insoluble en ácido sulfúrico (Ligas) según Van Soest et al. (1991) utilizando la tecnología Ankom. Se omitió sulfito de sodio y se incluyó  $\alpha$ -amilasa termoestable en la solución detergente neutro. Las fracciones FDN y FDA se expresaron libres de ceniza (aFDNmo, FDAmo).

Para la cuantificación de la materia orgánica se determinó cenizas (C) por incineración en mufla a 600 °C durante 3 horas (AOAC, 2007)

La energía bruta (EB) se determinó en un calorímetro (Calorimeter Thermostat, Model Record, Karl Kolb KG). La energía metabolizable (EM) se obtuvo por la ecuación de predicción de Alderman y Cottrill (1993), con la fórmula:

$$EM \text{ (Mcal/Kg MS)} = \text{DIVMO (\%)} \times 0,0157 / 4,185 \times 10$$

DIVMO (%): Materia orgánica digestible *in vitro*, en %.

### 3.5.3.2. Digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica

La digestibilidad se determinó *in vitro* por la técnica de digestibilidad verdadera *in vitro* usando el equipo Daisy<sup>II</sup> (Ankom Technology, s.f.). Las muestras (0.5 g) se colocaron en bolsas (5 x 3 cm) confeccionadas con tela polyester de monofilamento (Sefar Inc., Switzerland) con un tamaño de poro de 45  $\mu\text{m}$ . Dichas muestras se incubaron por 48 h en una mezcla de inóculo ruminal con una solución buffer (Cuadro No. 10) en una relación 1:4 (v/v). La solución buffer fue una combinación de 2 soluciones (A y B, Cuadro No. 10) como se indica en el procedimiento de Ankom para la digestibilidad verdadera *in vitro* de Goering- Van Soest (Ankom Technology, s.f.).

Cuadro No. 10. Solución buffer

<b>Solución A (c.s.p 1000 ml)</b>	
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	4 g
NaHCO <sub>3</sub>	35 g

Agua destilada	Hasta llegar a 1000 ml total
<b>Solución B</b>	
<b>Solución macromineral (c.s.p 1000 ml)</b>	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O	14.4 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6.2 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.6 g
Agua destilada	Hasta llegar a 1000 ml total
<b>Solución micromineral (c.s.p 100 ml)</b>	
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	13.2 g
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	10 g
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1 g
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	8 g
Agua destilada	Hasta llegar a 100 ml total
<b>Solución reductora (c.s.p 100 ml)</b>	
Resazurina (indicador redox)	0,1 g
Agua destilada	Hasta llegar a 100 ml total

Se empleó una mezcla de contenido ruminal (líquidos y sólidos) proveniente de cuatro ovinos Corriedale machos castrados capones (peso promedio 47 kg), provistos de cánula ruminal que se manipularon de acuerdo a las Normas del Comité de Ética de la Universidad de la República. Los animales se alimentaron dos veces por día (06:00 AM y 06:00 PM horas) con heno de alfalfa de buena calidad (15,74 %PC y 55,05 %FDN<sub>mo</sub>) a razón de 3% de su peso vivo en MS, teniendo libre acceso a sales minerales y agua. El contenido ruminal se colectó dos horas luego de la comida de la mañana, en el laboratorio se procesó en una licuadora (Punktal, PK-500SS) durante 1 minuto y se filtró a través de cuatro capas de gasa, llevándose a cabo todo el manipuleo bajo un flujo continuo de CO<sub>2</sub>.

En un bollón de digestión se agregaron 1600 ml de solución buffer pre calentada a 39°C; luego estos fueron colocados dentro del incubador Daisy<sup>II</sup> y a los 30 minutos se agregaron 400 ml de inóculo ruminal. En el bollón con capacidad para 24 bolsitas se colocaron 18 muestras de alimento (2 especies x 3 alturas x 3 parcelas), completando los restantes lugares con tres estándar y tres blancos para cada incubación. Completadas las 48 hs de incubación con medio ruminal se retiraron las bolsitas y se lavaron con agua desionizada. Luego se procedió a determinar FDN, MS, y cenizas de acuerdo a lo indicado previamente en el ítem “Caracterización química”. A la semana se incubó otro bollón (“corrida 2”) con igual cantidad de bolsitas que la “corrida 1”, obteniéndose en total 2 repeticiones por muestra de alimento.

#### 3.5.3.3. Producción de gas total y metano

Para determinar la producción de gas total y de metano se utilizó la técnica de producción de gas *in vitro* según la metodología descrita por Theodorou et al. (1994). La noche previa a la incubación, las muestras (500 mg,) se colocaron en viales de 125 ml a las cuales se agregó agua desionizada (12 ml), se taparon con septos de butilo y se colocaron (8hs) a 4°C a efectos de humectar las muestras. A primera hora de la mañana del día siguiente, a cada frasco se adicionó inóculo ruminal (10 ml), solución buffer (28 ml) y solución reductora (2 ml) (Ankom Technology, s.f.). Cada frasco se tapó con septos de goma butilo y fue sellado con precintos de aluminio, empleando un flujo continuo de CO<sub>2</sub> durante todo el procedimiento. La solución buffer y el inóculo ruminal se obtuvieron procediendo de la misma manera como fue indicado previamente para la determinación de la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica. Los frascos se colocaron en un baño María (39°C) con agitación. Se realizaron tres incubaciones (“corridas”) separadas una semana entre sí. En cada incubación cada muestra se incubó por duplicado, incluyéndose cuatro viales conteniendo inóculo ruminal y solución buffer (blancos) y cuatro conteniendo un heno de alfalfa estándar. De esta forma se obtuvieron seis mediciones de cada muestra de pastura.

Las mediciones de gas se realizaron a la 1,2,3,4,6,8,10,12,16,24,48 y 72 horas de incubación, registrándose la presión y el volumen de gas. La presión generada por el gas acumulado en la parte superior de los frascos de incubación, se midió con un transductor de presión tipo 453 CEPA conectado a un lector digital (Bailey Mackey Ltd., Birmingham, UK) y el volumen de gas con

una jeringa de 10 ml graduada al milímetro. El volumen de gas (ml) acumulado en cada horario de medición fue estimado de acuerdo a las ecuaciones de regresión generadas en cada "corrida" a partir de los datos de presión y volumen medidos. Para la evaluación de los tratamientos se consideró la producción de gas total y metano acumulado hasta las 8 h, entre las 8 y 24 hs y entre las 24 y 48 hs de incubación, períodos que abarcaron 8, 16 y 24 hs de incubación respectivamente. También se evaluó la producción de gas total y metano en la totalidad de las horas de incubación (48hs). Este último resultado surgió de la suma de las producciones parciales en los períodos indicados previamente. Para obtener estos últimos valores, se emplearon por cada vial incubado, tres juegos de frascos de 125 ml tapados con septos de butilo y sellados con precinto de aluminio. En uno de los frascos fue transferido, en forma inmediata, el gas generado en cada momento de medición realizada desde las 0 a las 8 hs de incubación (inclusive), en el segundo y tercer frasco se procedió de la misma forma para las mediciones de las 8 a las 24 hs de incubación (inclusive) y de las 24 a las 48 horas de incubación. En el gas acumulado en cada uno de los frascos se midió la concentración de metano en un cromatógrafo de gases (HP; 5890 I), equipado con detector de ionización de llama (FID) y una columna semicapilar Varian Cp-Pora Bond Q (25 metros x 0.53 mm). Las condiciones cromatográficas fueron temperatura de inyector 200°C, temperatura del detector 250°C, temperatura del horno constante a 90°C. El carrier utilizado fue gas nitrógeno a un flujo de 10 psi. Se utilizó un estándar de metano de concentración conocida para calcular los mg de metano obtenidos para cada muestra.

### 3.6. ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados de la caracterización fenológica (número, largo y ancho de hojas y el índice Feller), las características químicas (MS, Cenizas, PC, las fracciones A, B1, B2, B3, y C, PCIDN, aFDNmo, FDAmo, y lignina), la DIVMO, la EM, y la producción de gas total y metano generado en la totalidad del período de incubación (48 hs) se analizaron en un diseño de parcelas subdivididas con la parcela principal en bloques al azar: Se definió como parcela principal el efecto especie y la sub-parcela el efecto altura y el modelo general:

$$y_{ijk} = \mu + \text{Bloque}_k + A_i + \delta_{ik} + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

donde,

$y_{ijk}$ : variable de respuesta  $k$  en el nivel  $i$  del factor especie y en el nivel  $j$  del factor altura

$\mu$ : media general

$\text{Bloque}_k$ : efecto del  $k$ -ésima bloque

$A_i$ : efecto del  $i$ -ésima especie

$B_j$ : efecto del  $j$ -ésima altura

$(AB)_{ij}$ : efecto de la  $ij$ -ésima interacción especie-altura

$\delta_{ik}$ : error de la parcela principal (interacción bloque-especie)

$\varepsilon_{ijk}$ : error experimental

En el análisis del gas total y metano acumulados entre las 0 y 8 hs, 8 y 24 hs y 24 y 48 hs de incubación, se consideró las horas de incubación (8, 16 y 24, respectivamente) como medidas repetidas y como unidad experimental el vial. El modelo empleado fue:

$$y_{ijkl} = \mu + \text{Bloque}_l + A_i + \delta_{il} + B_j + (AB)_{ij} + C_k + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

donde,

$y_{ijkl}$ : variable de respuesta de la observación  $l$  en el nivel  $i$  del factor especie, el nivel  $j$  del factor altura y el nivel  $k$  del factor horas de incubación.

$\mu$ : media general

$\text{Bloque}_k$ : efecto del  $k$ -ésimo bloque

$A_i$ : efecto del  $i$ -ésima especie

$B_j$  (Altura): efecto del  $j$ -ésima altura

$(AB)_{ij}$ : efecto de la  $ij$ -ésima interacción especie-altura

$\delta_{ik}$ : error de la parcela principal (interacción bloque-especie)

$C_k$ : efecto del  $k$ -ésima hora de incubación



(AC)<sub>ij</sub>: efecto de la *ik-ésima interacción de especie* – horas de incubación  
(BC)<sub>jk</sub>: efecto de la *jk-ésima interacción de altura- horas de incubación*  
(ABC)<sub>ijk</sub>: efecto de la *ijk-ésima interacción especie-altura-horas de incubación*  
 $\varepsilon_{ijkl}$ : error experimental

El análisis estadístico se realizó utilizando procedimiento mixto (PROC MIXED) del paquete estadístico SAS versión 9.2 (SAS, 2005) considerándose los efectos especie, altura, horas de incubación y sus interacciones (dobles y triple) como efectos fijos y el bloque y la interacción bloque x pastura como efectos aleatorios. Adicionalmente, en el análisis de las características fenológicas y producción de gas total y metano, las repeticiones (plantas y viales, respectivamente) se incluyeron como efectos aleatorios. Se consideró que las medias difirieron (test de Tukey) cuando  $P \leq 0.05$ , y diferencias entre medias con valores de P entre 0.05 y 0.15 se aceptaron como presentando tendencias a diferir.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. CARACTERÍSTICAS FENOLÓGICAS

Las alturas promedio de las plantas evaluadas fueron 15.3, 20.1 y 24.8 y 15.4, 20.2 y 24.7 para achicoria y llantén respectivamente (Cuadro No. 11). En el número y ancho de hojas y en el índice de Feller se observó interacción ( $P \leq 0.01$ ) entre la especie y la altura de las plantas.

Cuadro No. 11. Caracterización fenológica de las plantas de achicoria y llantén a diferentes alturas de corte (15, 20 y 25 cm)

Especie	Altura	Cm	Hojas			Índice de Feller*
			Número	Largo	Ancho	
				cm		
Achicoria	15	15.3	7.8	10.8b	2.7bx	1.7x
	20	20.1	8.2	13.6a	2.9bx	1.8
	25	24.8	8.9	16.2a	3.4ax	1.8
Llantén	15	15.4	5.4b	10.9b	1.7by	1.5by
	20	20.2	6.5b	14.2a	2.3ay	1.6b
	25	24.7	9.7 <sup>a</sup>	15.8a	2.4ay	1.8a
<b>EEM</b>		0.2	0.7	0.5	0.1	0.1

a,b: En cada especie, medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ ).

x,y: En cada altura medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ ).

\* Sistema de codificación BBCH que define al estado vegetativo con el número 1 y en este estadio considera el desarrollo de las hojas (del tallo principal) desde el estadio 1.0 (aparición de los cotiledones) hasta 1.9 (aparición de 9 o más hojas verdaderas desplegadas). Feller (1995).

En achicoria el número de hojas (8) no varió ( $P = 0.28$ ) al aumentar la altura de las plantas mientras que en llantén, las plantas de 15 y 20 cm presentaron un número de hojas similar ( $P = 0.48$ ) y menor ( $P < 0.01$ ) que las plantas 25 cm (5, 6 y 10, respectivamente). Así mismo, las plantas de 15 cm de achicoria tendieron a tener más hojas ( $P = 0.10$ ) que las de llantén, mientras que las de 20 y 25 cm presentaron igual número de hojas en ambas especies ( $P > 0.39$ ).

Con respecto al largo de hojas no se observó interacción ( $P=0.33$ ) entre especies y alturas. En ambas especies, a igual altura, el largo de las hojas fue similar ( $P= 0.87$ ) (11, 14 y 16 cm en las de 15, 20 y 25 cm respectivamente) aumentando ( $P< 0.01$ ) el largo de las hojas cuando las plantas crecieron de 15 a 20 cm, y permaneciendo iguales de 20 a 25 cm.

En ambas especies el ancho de las hojas varió ( $P< 0.01$ ) al aumentar la altura de las plantas. En achicoria, el ancho de las hojas de las plantas de 15 y 20 cm fue similar (2.8 cm) ( $P= 0.57$ ) y menor ( $P< 0.01$ ) que en las plantas de 25 cm (3.4 cm), mientras que en llantén el ancho de las hojas de las plantas de 15 cm (1.7 cm) fue menor ( $P<0.01$ ) que en las plantas de 20 y 25 cm las cuales presentaron hojas de ancho similar (2.3 cm) ( $P= 0.58$ ). Así mismo, en cada altura de planta evaluada, el ancho de las hojas de achicoria fue mayor ( $P< 0.01$ ) que las de llantén.

En relación al índice de Feller las plantas se encontraron en el rango correspondiente a la escala entre 1.4 y 1.9. En achicoria, las plantas de las tres alturas evaluadas presentaron un índice (1.8) similar ( $P> 0.20$ ), mientras que en llantén las plantas de 15 y 20 cm presentaron un índice (1.5) similar ( $P= 0.24$ ) pero menor ( $P< 0.01$ ) que las plantas de 25 cm (1.8). A igual altura, la achicoria de 15 cm presentó un mayor ( $P= 0.02$ ) índice de Feller que el llantén (1.7 y 1.5, respectivamente), observándose una tendencia similar ( $P= 0.06$ ), en las plantas de 20 cm (1.8 y 1.6, respectivamente), presentando a los 25 cm igual ( $P> 0.90$ ) índice de madurez (1.8).

#### 4.2. FRACCIONAMIENTO QUÍMICO, DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LA MATERIA ORGÁNICA Y ENERGÍA METABOLIZABLE

No se observaron interacciones ( $P> 0.05$ ) entre las especies y las alturas de las plantas, en los contenidos MS, FDNmo, FDAmo y Ligs, pero si se observó interacción ( $P= 0.02$ ) en el contenido de cenizas entre la especie y la altura de las plantas.

Cuadro No. 12. Materia seca, cenizas, fracciones de la fibra, digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y aporte energético de plantas de achicoria y llantén cosechadas a 15, 20 y 25 cm de altura

Especie	Altura	MS	Cenizas	FDNmo	FDAmo	Lig <sub>as</sub>	DIVMO	EB	EM
		%	%, BS				%	Mcal/kg MS	
Achicoria	15	10,6	18,2 y	35,1 b	24,7	12,7	73,5	4,03	2,25
	20	10,3	18,1	38,1 a	26,5	14,3	71,5	3,57	2,19
	25	10,9	17,8	36,8 a	25,1	12,4	76,5	3,83	2,35
Llantén	15	11,0	20,6 ax	32,8 b	22,1	10,6	74,0	3,47	2,21
	20	11,2	18,6 b	36,3 a	27,1	13,1	72,0	3,82	2,2
	25	10,7	19,3 b	35,0 a	25,8	11,8	70,2	3,52	2,12
<b>EEM</b>		0.3	0.6	0.8	1.4	1.38	1.4	0.2	0.05

† DIVMO: digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica

‡ EB, energía bruta, EM: energía metabolizable calculada según Alderman y Cottrill (1993)

a,b: En cada especie, medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ )

x,y: En cada altura medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ )

En achicoria y llantén el contenido de MS (10,8%) fue similar ( $P= 0.26$ ) y no varió ( $P> 0.26$ ) al aumentar la altura de las plantas (Cuadro No. 12).

En achicoria el contenido de cenizas (18%) no varió ( $P> 0.80$ ) al aumentar la altura de las plantas, mientras que en llantén, las plantas de 20 y 25 cm presentaron contenidos (19%) similares ( $P= 0.43$ ) pero menores ( $P< 0.05$ ) que las de 15 cm (21%). A igual altura, la achicoria de 15 cm presentó un menor ( $P= 0.03$ ) contenido de cenizas que el llantén (18 y 21%, respectivamente). Las plantas de achicoria y llantén de 20 y 25 cm presentaron similares ( $P> 0.20$ ) contenidos de cenizas (18%).

Los contenidos de FDNmo de achicoria y llantén variaron, entre 35 y 38 y 33 y 36%, respectivamente, para las distintas alturas de las plantas. Las plantas de achicoria tendieron a un mayor contenido ( $P= 0.10$ ) de FDNmo que las de llantén (37 y 35%, respectivamente) y en ambas especies las plantas de 15 cm presentaron menor ( $P< 0.01$ ) contenido que las de 20 cm y una tendencia ( $P= 0.08$ ) a ser menor que las de 25 cm, presentando igual ( $P= 0.26$ ) contenido las de 20 con las de 25 cm. La achicoria y el llantén presentaron contenidos similares ( $P= 0.75$ ) de FDAmo (25%) observándose en las plantas de 15 cm una tendencia ( $P= 0.06$ ) a contener menos FDA que las plantas de 20 cm (23 y 27%, respectivamente).

En el contenido de lignina no hubo diferencias ( $P= 0.4$ ) entre las especies y las alturas de las plantas, siendo el contenido promedio de éstas de 12.7, 14.3 y 12.4 y 10.6, 13.1 y 11.8% para achicoria y llantén respectivamente.

No se observaron interacciones ni diferencias ( $P> 0.2$ ) entre especies y entre alturas en DIVMO, EB y EM. La DIVMO (73%) no varió ( $P> 0.25$ ) al aumentar la altura de las plantas ni al comparar las especies entre plantas de igual altura. Con respecto a la EB, existió una tendencia a mayor ( $P= 0.09$ ) concentración para achicoria que para llantén a los 15 cm (4.03 vs 3.47), incluso en la achicoria, cuando las plantas pasaron de 15 a 20 cm, existió una tendencia ( $P=0.09$ ) a aumentar la concentración, pero esto no sucedió esto cuando alcanzaron los 25 cm, siendo el contenido de EB intermedio entre estas. Se observó una tendencia a mayor ( $P= 0.1$ ) cantidad de EM en plantas de achicoria que en plantas de llantén a los 25 cm (2.35 vs 2.12).

#### 4.3. CARACTERÍSTICAS PROTEICAS Y FRACCIONES PROTEICAS DE CORNELL

Se observó interacción ( $P= 0.005$ ) entre las especies y las alturas de las plantas para la PC. No se observaron interacciones ( $P> 0.21$ ) entre las especies y las alturas de las plantas en PCIDN y las fracciones A, B1, B2, B3 y C.

El promedio de la PC para la achicoria fue de 27.1% y para el llantén de 22.2% (Cuadro No. 13). A los 15 cm ambas especies no presentaron diferencias, pero si al aumentar la altura, las plantas de achicoria de 20 y 25 cm presentaron un mayor ( $P< 0.02$ ) contenido de PC que las plantas de llantén. Se observó tendencia ( $P= 0.10$ ) a que las plantas de achicoria de 20 cm tuvieran un menor contenido de PC que las de 15 cm (28 vs 26) y en llantén a los 15 cm mayor ( $P= 0.05$ ) que a los 25 cm (24 vs 21), con un valor intermedio entre estos a los 20 cm (22%).

Las especies se diferenciaron ( $P= 0.05$ ) en su contenido de PCIDN, con una tendencia a mayor cantidad ( $P= 0.09$ ) en achicoria que en llantén a los 20 cm (15 vs 13), ocurriendo lo mismo ( $P= 0.04$ ) a los 25 cm (15 vs 12), mientras que a los 15 cm presentaron igual contenido ( $P= 0.42$ ).

No se observaron diferencias entre especies ( $P> 0.5$ ) en los contenidos de las fracciones A, B1, B2, B3 y C en la PC, que en promedio fueron 19, 6, 20, 19 y 37%, respectivamente; y en ambas especies si se observaron diferencias ( $P< 0.04$ ) entre las alturas para las fracciones B2, B3 y C. Para la fracción de degradación intermedia (B2) las plantas de 15 cm presentaron mayor ( $P> 0.08$ ) contenido que las plantas de 20 y 25 cm, no existiendo diferencias ( $P= 1.0$ ) entre estas últimas; mientras que en la fracción de degradación lenta (B3) las plantas de 20 cm no presentaron diferencias ( $P> 0.18$ ) con las plantas de 15 y 25 cm, pero si ( $P= 0.04$ ) las de 15 con las de 25 (27 vs 13). Con respecto a la fracción indigestible (C), las plantas de 15 cm presentaron menor ( $P= 0.03$ ) contenido que las de 25 cm (27 vs 44) y podríamos indicar una tendencia a menor ( $P= 0.12$ ) las de 15 que las de 20 cm (27 vs 39) e igual proporción ( $P= 0.6$ ) las de 20 y 25 cm (42%).

Cuadro No. 13. Caracterización proteica: PC, PCIDN y fracciones proteicas de Cornell para las diferentes alturas de corte (15, 20 y 25 cm)

Especie	Altura	PC	PCIDN	A	B1	B2	B3	C
		% MS		% PC				
Achicoria	15	25,6	14,1	16,3	6,1	22,2 a	25,4 a	30,0 b
	20	28,2 x	15,3 x	20,1	6,1	18,9 b	16,4 ab	38,4 ab
	25	27,6 x	15,3 x	18,9	7,4	18,5 b	13,6 b	41,7 a
Llantén	15	24,0a	12,4	19,9	3,3	25,0 a	28,0 a	23,7 b
	20	21,9aby	12,6 y	20,4	5,1	16,7 b	18,5 ab	39,2 ab
	25	20,9by	12,0 y	17,7	7,5	16,9 b	11,5 b	46,4 a
<b>EEM</b>		1.2	0.6	3.4	1.9	2.8	4.9	6.3

a,b: En cada especie, medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ )

x,y: En cada altura medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ )

#### 4.4 PRODUCCIÓN TOTAL DE GAS Y METANO

En producción de gas y metano acumulados a las 48 horas no se observó interacción entre alturas y horas ( $P > 0.25$ ) y entre las pasturas, alturas y horas de medición ( $P > 0.20$ ). Se observó diferencias ( $P < 0.001$ ) en las horas de medición.

Considerando el período total de medición de gas (0 a 48 horas) no se detectaron diferencias ( $P > 0.50$ ) entre plantas de diferente altura de la misma especie ni entre plantas de igual altura pero diferente especie (305 ml/g MOi). En cuanto a la producción de metano acumulada, en llantén las plantas de 15 cm presentaron menor ( $P = 0.02$ ) producción (20 ml/g MOi) que las plantas de 20 y 25 cm, siendo similar ( $P = 0.9$ ) la producción entre estas últimas (36 y 34 ml/g MOi, respectivamente); y en achicoria no hubieron diferencias entre las alturas (40 ml/g MOi).

En ambas especies se observó una mayor producción de gas ( $P < 0.01$ ) en el período de 0 a 8 horas que en el de 8 a 24 horas y este último produjo más ( $P < 0.01$ ) que en el período de 24 a 48 horas (163, 98 y 44 ml/g MOi, respectivamente). Así mismo se observó una tendencia ( $P = 0.11$ ) en plantas de 15 cm a una mayor producción de metano en plantas de achicoria que las de igual altura de llantén (12 y 3 ml/g MOi para achicoria y llantén, respectivamente). La producción de metano fue mayor ( $P < 0.01$ ) en el período de 8 a 24 horas (18 ml/g MOi) que en el período de 0 a 8 y éste fue similar ( $P = 0.60$ ) al de 24 a 48 horas (9 ml/g MOi).



Cuadro No. 14. Producción total de gas y metano acumulados y por períodos para las diferentes alturas y especies

Especie	Altura	Horas							
		0 a 48	0 a 8	8 a 24	24 a 48	0 a 48	0 a 8	8 a 24	24 a 48
		Gas (ml)/g MO inc.				Metano (ml)/g MO inc.			
Achicoria	15	303	162A	97B	45C	41x	12B	20 <sup>a</sup>	10B
	20	299	160A	92B	43C	40	11B	19 <sup>a</sup>	9B
	25	309	172A	94B	43C	38	11B	18 <sup>a</sup>	9B
Llantén	15	299	153A	103B	49C	20Bby	3B	13 <sup>a</sup>	9B
	20	309	165A	100B	43C	36Aa	10B	18 <sup>a</sup>	8B
	25	309	164A	102B	42C	34Aa	7B	18 <sup>a</sup>	9B
<b>EEM</b>		14.0	6.0	6.0	6.0	5.7	2.1	2.1	2.1

A,B,C: En cada fila, medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ )

a,b: En cada especie, medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ ) en altura

x,y: En cada altura medias con letras distintas indican diferencias ( $P \leq 0.05$ ) entre especies

## 5. DISCUSION

### 5.1. COMPARACION ENTRE ALTURAS DE LA MISMA ESPECIE

En achicoria el índice objetivo de desarrollo fenológico (basado en el número de hojas de hojas) no reflejó la totalidad de los cambios fenológicos observados pues el largo y ancho de las hojas se modificaron al aumentar la altura de las plantas.

El bajo contenido de MS (11%) el cual permaneció constante al aumentar la altura, podría limitar el consumo en animales en pastoreo. El alto contenido de cenizas (19%) de estas especies, similares a los reportados por Barry (1998) para achicoria (18%), pueden presentar beneficios en la salud animal fortaleciendo el sistema inmunológico reduciendo la población de parásitos internos. Presentando contenidos de fósforo, potasio y magnesio superiores que el raigrás perenne y el trébol rojo (Barry, 1998).

La FDN presentó el mismo comportamiento al aumentar la altura en las dos especies, aumentando a partir de los 20 cm. Esto coincide con el desarrollo fenológico de las plantas, ya que a partir de 20 cm podríamos establecer que las plantas de achicoria y llantén, presentan igual índice de madurez. La FDA y la DIVMO fueron similares para las distintas alturas en ambas especies, lo que refleja la correlación entre el contenido de FDA y la digestibilidad de la MO (Van Soest, 1984). La producción de gas total a las 48 horas fue similar entre las alturas, para las dos especies, reflejando la similitud de las especies en cuanto a la DIVMO. El mayor contenido de FDN en plantas de 20 cm respecto a las de 15 cm con una FDA y Lig<sub>as</sub> que no variaron con la altura de las plantas, hacen suponer que los contenidos de hemicelulosa aumentaron. Esto se refleja en la producción de metano acumulada del llantén, en donde las plantas de 20 y 25 cm presentaron mayor producción que las de 15. En cambio en achicoria, la producción acumulada de metano no presentó diferencias entre las alturas, lo cual podría estar explicado por un alto contenido de pectinas (Kusmartono et al., 1998) que es fermentado previo al resto de los carbohidratos estructurales, promoviendo la producción de metano con un menor contenido de FDN a los 15 cm.

La mayor producción de metano entre las 8 y 24 horas de incubación se debe a que los primeros en ser fermentados son los carbohidratos solubles con una producción de gas mayor entre las 0 y 8 horas. En cambio la fibra al ser de más lenta fermentación, explica que la mayor producción de metano se concentre entre las 8 a 24 horas de incubación en un menor volumen de gas total.

Los contenidos de PC fueron similares al aumentar la altura de achicoria y llantén. El N total se encontró en proporciones similares en el contenido y pared celular (45 y 55%, respectivamente), modificándose las proporciones de las fracciones B2, B3 y C cuando las plantas pasaron de 15 a 20 cm. La modificación mayor se produjo en las fracciones nitrogenadas asociadas a la pared incrementándose en forma notoria la fracción no degradable no digestible.

## 5.2. COMPARACION ENTRE LAS ESPECIES Y OTRAS FORRAJERAS

La achicoria tendió a presentar mas hojas a los 15 cm y más anchas en todas las alturas que el llantén. Considerando que el contenido de MS fue similar para plantas de igual altura, por unidad de peso la achicoria presenta mayor MS que el llantén. Tanto en la achicoria como en el llantén los contenidos de MS (11%) fueron menores que en raigrás, lotus y trébol rojo (20, 17 y 19% respectivamente) (Marichal, 2009) y similares a los reportados para achicoria por Fenoglio et al. (1989), Mieres (2004).

Los contenidos de cenizas (19%) fueron elevados en ambas especies si las comparamos con leguminosas forrajeras como el lotus y el trébol rojo (10%; Marichal, 2009), pero similar con gramíneas como el raigrás bianual (18%; Marichal, 2009). La achicoria presentó similares contenidos a los reportados por Mieres (2004) en invierno (19%), y en llantén fueron superiores a los de Marichal<sup>3</sup>, Sano et al. (2010) (13 y 14%, respectivamente). En esta última especie, a los 15 cm estas diferencias aumentaron ya que los valores fueron superiores que para la achicoria, presentando ésta un mayor contenido de MO. En ambas especies más del 50% del gas total (163 ml/g MOi) producido por la fermentación de la MO se obtuvo en el período de 0 a 8 horas, presentando una

mayor producción que lo reportado por Lovett et al. (2004) para raigrás perenne (105 ml/g MOi). Lo mismo ocurrió en el gas acumulado a las 24 horas (260 vs 220 ml/g MOi).

Los contenidos de FDN (37 y 35% para achicoria y llantén, respectivamente) fueron similares a los encontrados por Scale et al. (1995), Mieres (2004), Labreveux et al. (2006), Crespi et al. (2011) para estas mismas especies. Comparado con otras especies, el llantén presentó similar contenido que el lotus (34%; Marichal, 2009) y la achicoria un valor intermedio entre el lotus y el trébol rojo (39%; Marichal, 2009). Ambas especies presentaron contenido de FDN inferior al raigrás bianual (42%; Marichal, 2009). La achicoria a los 15 cm presentó mayor producción de metano a las 48 horas que el llantén, sin embargo los contenidos de FDN no presentaron diferencias entre especies a dicha altura. Esto mismo fue reportado por Meale et al. (2012) en gramíneas tropicales y arbustos, en donde no se observó correlación entre la producción de metano y el contenido de FDN. La producción de metano a las 24 horas fue superior en ambas especies (30 y 23 ml/g MOi para achicoria y llantén, respectivamente) respecto a la alfalfa y algunas gramíneas (agropiro y bromus) reportadas por Chaves et al. (2006) (18 y 16 ml/g MOi para alfalfa y gramíneas, respectivamente), y a raigrás perenne (19 ml/g MOi) reportado por Lovett et al. (2004). Sin embargo resultados a las 12 horas de incubación para alfalfa y *Lotus pedunculatus* (28 y 19 ml/g MOi, respectivamente), reportados por Tavendale et al. (2005), mostraron mayor producción de metano que la obtenida en achicoria y llantén a las 24 horas de incubación; por lo cual se esperaría aún mayor producción de metano en las primeras si se duplicara el tiempo de incubación. La mayor producción de metano en el período de 16 horas de incubación respecto al de 8 horas coincide con los resultados de Lovett et al. (2004) para el raigrás perenne, en donde la producción fue de 13 y 6 ml/g MOi, respectivamente.

En cuanto a la fracción relacionada a la indigestibilidad de los forrajes (FDAmo) no se observaron diferencias entre las especies a la misma altura, al igual que la DIVMO y la producción de gas total. El valor en promedio de FDA (25%) fue similar a los reportados por Marichal<sup>3</sup>, Marichal (2009) pero levemente superiores al raigrás y trébol rojo (21 y 23%, respectivamente). En achicoria la DIVMO (74%) se ubicó dentro del rango de datos reportados por

Kusmartono et al. (1997), Barry (1998), Turner et al. (1999). La concentración de EM (2.3 Mcal/ KgMS) fue similar a la obtenida por Mieres (2004) en otoño y Marichal et al. (2010) en primavera, ambas en estado vegetativo.

En llantén la PC (22%) presentó similar contenido que los reportados por Fraser y Rowarth (1996), Labreveux (2006) (21 y 22% en primavera y verano, respectivamente) mientras que para la achicoria fueron superiores (27%). Comparados con las leguminosas, las especies presentaron similares contenidos que el trébol rojo y alfalfa (26 y 22%, respectivamente) (Marichal, 2009). La achicoria presentó un contenido de NIDN (15%) mayor a los obtenidos por Marichal<sup>3</sup>, Marichal (2009), (9 y 12%, respectivamente) y el llantén un valor similar al reportado por Marichal<sup>3</sup>.

Las especies evaluadas comparadas con leguminosas como la alfalfa y trébol rojo (Marichal, 2009), presentaron igual contenido de fracción A, menor de B1 y B2, igual de B3 (a los 15 cm) y mayor contenido de fracción C. Similares resultados para las fracciones proteicas fueron reportados por Marichal (2009) para achicoria en estado vegetativo. En relación a gramíneas como el raigrás, ambas especies presentaron mayor contenido de A, menor de B1 y B2, igual de B3 (a partir de los 20 cm) y mayor contenido de C. Por lo tanto si las comparamos con otras forrajeras (gramíneas y leguminosas) presentan una mayor proporción de nitrógeno en forma no disponible y una menor cantidad de nitrógeno asociado al contenido celular de rápida disponibilidad.

En comparación con otras forrajeras, el llantén presentó igual proporción (9%) de metano respecto al gas total producido que el raigrás perenne con 80 kgN/ha. En cambio la achicoria produjo (12%) la mitad que el trébol rojo.

## 6. CONCLUSIONES

El índice de Feller no reflejó la totalidad de los cambios fenológicos registrados al aumentar la altura de las plantas.

Ambas especies presentaron contenido elevados de cenizas y Lig<sub>as</sub>. Los contenidos de pared celular se modificaron cuando las plantas crecieron de 15 a 20 cm , no observándose cambios en las características de las paredes.

En todas las alturas de plantas, en ambas especies se observaron digestibilidad y contenido de energía metabolizable, elevados.

El contenido de PC de las plantas de achicoria fue mayor que las de llantén cuando las plantas pasaron de 15 a 20 cm. En ambas especies ese cambio de altura, estuvo asociado a cambios en las proporciones de las fracciones proteicas, particularmente un aumento de la fracción proteica no degradable en rumen y no digestible en el intestino.

Ambas especies aparecen con similares potencial de producción de gas total.

En el rango de alturas de pastoreo evaluadas, en ambas especies los cambios fenológicos observados cuando las plantas incrementaron su altura de 15 a 20, estuvieron asociados a un menor valor proteico y a un incremento de su pared celular que no se reflejó en modificaciones del aporte energético. En el llantén, ese aumento de pared celular se vinculó con un mayor potencial metanogénico lo cual no se observó en la achicoria.

## 7. RESUMEN

El desarrollo fenológico de las plantas va acompañado por cambios en su composición química, valor nutritivo y potencial metanogénico. En plantas de achicoria (*Cichorium intybus* cv. INIA Lacerta) y llantén (*Plantago lanceolata* cv. Ceres Tonic) cosechadas a alturas 15, 20 y 25 cm se midió el número, ancho y largo de cada hoja, y se determinó la cantidad y composición de la pared celular y características de la proteína. Se registró la producción *in vitro* de gas a la 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 48 horas de incubación, con la recolección del gas acumulado de 0 a 8, 8 a 24 y 24 a 48 horas para determinar la concentración de metano por cromatografía gaseosa. El diseño experimental fue de parcelas subdivididas con la parcela principal en bloques al azar, definiéndose como parcela principal el efecto especie y la sub-parcela el efecto altura. A medida que las plantas aumentaron de altura se observaron cambios en el desarrollo fenológico en largo y ancho de hojas. Los contenidos de MS fueron bajos y los de ceniza altos (11 y 18%, respectivamente). La FDN y las fracciones proteicas de intermedia (B2) y lenta degradación (B3) fueron mayores ( $P < 0.05$ ) a los 15 cm que a los 20 y 25 cm. El NIDN fue superior en la achicoria que en el llantén cuando las plantas alcanzaban los 20 y 25 cm, observándose el mismo comportamiento en el largo de hojas y un mayor ( $P < 0.01$ ) ancho de hoja en la achicoria que en llantén para todas las alturas. El gas total producido se concentró en el período de 0 a 8 horas y el metano en el de 8 a 24 horas. La menor producción de metano se observó en llantén a los 15 cm. A medida que las plantas aumentaron de altura se observaron cambios en el desarrollo fenológico en ambas especies, así como también en la fibra, proteína y potencial metanogénico. Infiriéndose algunas asociaciones entre estas.

Palabras clave: Forrajeras; *Cichorium intybus*; *Plantago lanceolata*; Caracterización fenológica; Composición química; Valor nutritivo; *In vitro*; Potencial metanogénico.

## 8. SUMMARY

The phenological development of plants is accompanied by changes in its chemical composition, nutritional value and methanogenic potential. In chicory (*Cichorium intybus* cv. INIA Lacerta) and plantain (*Plantago lanceolata* cv. Ceres Tonic) plants harvested at heights of 15, 20 and 25 cm measured the number, width and length of each leaf, and determined the amount and composition of cell and protein characteristics. Was recorded in vitro gas production at 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 48 hours of incubation, with the collection of accumulated gas from 0 to 8, 8 to 24 and 24 to 48 hours to determine the concentration of methane gas chromatography. The experimental design was split plot with main plots in randomized blocks, defined as main plots the species effect and subplot the height effect. As plants increased in height changes were observed in the phenological development in leaf width and length. The contents in DM were low and high in ash (11 and 18%, respectively). The NDF and protein fractions of intermediate (B2) and slow degradation (B3) were higher ( $P < 0.05$ ) at 15 cm than at 20 and 25 cm. The NDIN was higher in chicory than plantain when plants reached 20 to 25 cm, showing the same behavior in the long leaves and a higher ( $P < 0.01$ ) width leaf in chicory than plantain that for all heights. The total produced gas concentrated in the period from 0 to 8 hours and methane in 8 to 24 hours. The reduced production of methane was observed in the 15 cm plantain. As the plants increased in height phenological development changes were observed in both species as well as in the fiber, protein and methanogenic potential. Inferring some associations between them.

Keywords: Forage; *Cichorium intybus*; *Plantago lanceolata*; Phenological characterization; Chemical composition; Nutritive value; *In vitro*; Methanogenic potential.



## 9. BIBLIOGRAFIA

1. ALDERMAN, G.; COTTRILL, B.R. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. Wallingford, UK, CAB International. s.p.
2. ALEMSEGED, Y.; KEMP, D.R.; KING, G.W.; MICHALK, D.L.; GOODACRE, M. 2003. The influence of grazing management on the competitiveness persistence and productivity of chicory (*Cichorium intybus* L.). Australian Journal of Experimental Agriculture. 43: 127-133.
3. ANKOM TECHNOLOGY. s.f. In vitro true digestibility using the Daisy<sup>II</sup> incubator. (en línea). New York. s.p. Consultado ago. 2012. Disponible en [http://www.ankom.com/media/documents/IVDMD\\_0805\\_D200.pdf](http://www.ankom.com/media/documents/IVDMD_0805_D200.pdf)
4. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 2007. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup>. ed. Washington, D.C. s.p.
5. AYALA, W.; BERMÚDEZ, R.; BARRIOS, E. 2006. Novedades forrajeras; uso de llantén (*Plantago lanceolata*) en engorde ovino. (en línea). s.n.t. Consultado 22 nov. 2012. Disponible en [http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/documentos/documento\\_166/PDFs/1/1-12.pdf](http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/documentos/documento_166/PDFs/1/1-12.pdf)
6. \_\_\_\_\_.; BARRIOS,E.; BERMUDEZ, R.; SERRÓN, N. 2011. Efec of defoliation strategies on the productivity, popopulation and morphology of plantain (*Plantago lanceolata*). Pasture Persistence-Grassland Research and Practice Series. 15: 69-72.
7. BARRY, T.N. 1998. The feeding value of chicory ((*Cichorium intybus*)) for ruminant livestock. Journal of Agricultural Science. 131: 251 – 257.
8. BHATTA, R.; TAJIMA, K.; TAKUSARI, N.; HIGUCHI, K.; ENISHI, O.; KURIHARA, M. 2007. Comparison of *in vivo* and *in vitro* techniques for methane production from ruminant diets. Asian-Australian Journal of Animal Science. 20 (8):1049-1056.
9. BERTOLOTTI, N. 2010. Novedades en forrajeras templadas. (en línea). Córdoba, Sitio Argentino de Producción Animal. Consultado 2 ago. 2012. Disponible en <http://www.produccion-animal.com.ar>

10. BOSSI, J.; FERRANDO, L. 2001. Carta geológica del Uruguay a escala 1/500.000; versión digital 2.0. Montevideo, Facultad de Agronomía. 1 disco compacto.
11. CARAMBULA, M. 2007. Producción y manejo de pasturas sembradas; mezclas forrajeras. Montevideo, Hemisferio Sur. 464 p.
12. CHAVES, A.V.; THOMPSON, L.C.; IWAASA, A.D.; SCOTT, S.L.; OLSON, M. E.; BENCHAAAR, C.; VEIRA, D.M.; McALLISTER, T.A. 2006. Effect of pasture type (alfalfa vs. grass) on methane and carbon dioxide production by yearling beef heifers. *Canadian Journal of Animal Science*. 86: 409-418.
13. CRESPI, R.; MARICHAL, M de J.; GUERRA, M.H.; PIAGGIO, L. 2011. Valoración prteica de *Cichorium intybus* y *Plantago lanceolata* en cortes de primavera y otoño. (en línea). *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 19(5): E98. Consultado 5 ago. 2012. Disponible en [http://www.alpa.org.ve/ojs/index.php/ojs\\_files/article/viewFile/2194/627](http://www.alpa.org.ve/ojs/index.php/ojs_files/article/viewFile/2194/627)
14. DITSCH, D.C.; SEARS, B. 2007. Chicory; an alternative livestock forage. (en línea). s.n.t. Consultado 22 nov. 2012. Disponible en <http://www.ca.uky.edu/agc/pubs/agr/agr190/agr190.pdf>
15. DURMIC, Z.; HUTTON, P.; REVELL, D.K.; EMMS, J.; HUGHES, S.; VERCOE, P.E. 2010. *In vitro* fermentative traits of Australian woody perennial plant species that may be considered as potential sources of feed for grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 160: 98-109.
16. FELLER, C. 1995. Hortalizas de raíz y tubérculo; codificación BBCH de los estadios fenológicos de desarrollo de las hortalizas de raíz y tubérculo. *In*: Meier, U. Estadios de las plantas mono y dicotiledóneas. s.l., Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura. pp. 108-110.
17. FENOGLIO, H.F.; BRUNO, O.A.; ROMERO, L.A.; FOSSATI, J.L.; QUAINO, O.R. 1989. Evolución de la calidad de achicoria (*Cichorium intybus*). INTA E.E.A. Rafaela. Informe técnico no 38. 13 p.

18. FIORITO, M.I.; CALVO, G.A.; GARCÍA TOBAR, J.A. 1989. Digestibilidad de la materia seca del primer corte y del rebrote de achicoria (*Cichorium intybus*) en diferentes estados fenológicos. Revista Argentina de Producción Animal. 9 (2): 121-124.
19. FORMOSO, F. 1995. Producción de semillas de Achicoria cv INIA LE Lacerta. Montevideo, INIA. 20 p. (Serie Técnica no. 60).
20. FRASER, T.J.; ROWARTH, J.S. 1996. Legumes, herbs or grass for lamb performance? Proceedings of the New Zealand Grassland Association. 58: 49-52.
21. JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. Journal of Animal Science. 73: 2483-2492.
22. KUSMARTONO, A; SHIMADA, A.; BARRY, T.N. 1997. Rumen digestion and rumen outflow rate in deer fed fresh chicory (*Cichorium intybus*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*). Journal of Agricultural Science (Cambridge). 128: 87 - 94.
23. LABREVEUX, M.; HALL, M.H.; SANDERSON, M.A. 2004. Forage and grazing management. Productivity of Chicory and Plantain cultivars under grazing. Agronomy Journal. 96: 710 – 716.
24. \_\_\_\_\_.; SANDERSON, M.A.; HALL, M.H. 2006. Forage chicory and Plantain: Nutritive value of herbage at variable grazing frequencies and intensities. Agronomy Journal. 98: 231-237.
25. LEE, H.J.; LEE, S.C.; KIM, J.D.; OH, Y.G.; KIM, B.K.; KIM, C.W.; KIM, K.J. 2003. Methane production potential of feed ingredients as measured by *in vitro* gas test. Asian-Australian Journal of Animal Science. 16 (8):1143-1150.
26. LEE, S.S.; CHANG, M.B.; HA, J.K. 2004. Effects of bacterial fraction and proportion of silage and concentrate on rumen fermentation and gas production profile. Journal of Animal Science. 17 (5): 643-647.
27. LI, G.D.; KEMP, P.D.; HODGSON, J. 1997. Herbage production and persistence of Puna chicory (*Cichorium intybus* L.) under grazing management over 4 years. New Zealand Journal of Agricultural Research. 40 (1): 51-56.

28. LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fraction of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 57: 347-358.
29. LOVETT, D.K.; BORTOLOZZO, A.; O'KIELY, P.; CONAGHAN, P.; O'MARA, F.P. 2004. In vitro total methane gas production as influenced by rate of nitrogen application, season of harvest and perennial ryegrass cultivar. *Grass and Forage Science*. 59 (3): 227-232.
30. MCGEOUGH, E.J.; O'KIELY, P.; O'BRIEN, M.; KENNY, D.A. 2011. An evaluation of the methane output associated with high-moisture grains and silages using the *in vitro* total gas. *Animal Production Science*. 51(7): 627-634.
31. MARICHAL, M. de J. 2009. Tablas de composición de alimentos, subproductos agroindustriales y pasturas cultivadas en Uruguay. Montevideo, Facultad de Agronomía. 48 p.
32. \_\_\_\_\_; CARRIQUIRY, M.; ASTIGARRAGA, L.; TRUJILLO, A.I. 2010. N fractionation, degradability, intestinal digestibility, and adequacy for ruminal microbial activity of cultivated legumes. (en línea). *Livestock Research for Rural Development*. 22 (2): s.p. Consultado 22 nov. 2012. Disponible en <http://www.lrrd.org/lrrd22/2/mari22023.htm>.
33. MEALE, S.J.; CHAVES, A.V.; BAAH, J.; MCALLISTER, T.A. 2012. Methane production of different forages in in vitro ruminal fermentation. *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 25 (1): 86-91.
34. MENDIBURU, A.; CID, M.S.; BRIZUELA, M.A.; VAN BECELAERE, V.; BENDERSKY, D. 2006. Implantación de *Plantago lanceolata* cv Ceres Tonic puro y en mezcla con gramíneas. *Corrientes, INTA*. p.74.
35. MIERES, J.M. 2004. Guía para la alimentación de rumiantes. Montevideo, INIA. 80 p. (Serie Técnica no. 142).
36. MIN, B.R.; PINCHAK, W.E.; FULFORD, J.D.; PUCHALA, R. 2005. Wheat pasture bloat dynamics, in vitro ruminal gas production, and potential bloat mitigation with condensed tannins. *Journal of Animal Science*. 83: 1322-1331.

37. MOLONEY, S.C.; MILNE, G.D. 1993. Establishment and management of grasslands Puna chicory used as a specialist high quality forage herb. Proceedings of the New Zeland Grassland Association. 55: 113-118.
38. NAVARRO-VILLA, A.; O'BRIAN, M.; LOPEZ, S.; BOLAND, T.M.; O'KIELY, P. 2011. In vitro rumen methane output of red clover and perennial ryegrass assayed using the gas production technique (GPT). Animal Feed Science and Technology. 168: 152-164.
39. OMINSKI, K.H.; WITTENBERG, K.M. 2004. Strategies for reducing enteric methane emissions in forage-based beef production system. In: The science of changing climates; impact on agriculture, forestry and wetlands. Edmonton, Alberta, University of Alberta/Canadian Society of Agronomy/Animal Science and Soil Science. s.p.
40. PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. 1992. Nutrition, feeding and calves. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro. Journal of Dairy Science 76 (4): 1063-1073.
41. \_\_\_\_\_; \_\_\_\_\_. 1993. Nutrition, feeding and calves. Computerized monitoring of Gas production to measure forage Digestion *in vitro*. Journal of Dairy Science. 76 (4): 1063 - 1073.
42. ROMERO, L.A.; BRUNO, O.A.; FOSSATI, J.L.; QUAINO, O.R. 1988. Fertilización nitrogenada en achicoria (*Cichorium intybus*). Revista Argentina de Producción Animal. 8: 323-329.
43. SANDERSON, M.A.; WEDIN, W.F. 1989. Phenological stage and herbage quality relationships in temperate grasses and legumes. Agronomy Journal. 81: 864 - 869.
44. \_\_\_\_\_; LABREVEUX, M.; HALL, M.H.; ELWINGER, G.F. 2003. Nutritive value of chicory and english plantain forage. Crop Science Society of América. 43: 1797-1804.
45. SANO, H.; TAMURA, Y.; SHIGA, A. 2010. Metabolism and glucose kinetics in sheep fed plantain and orchard grass and exposed to cold. New Zeland Journal of Agricultural Research. 45 (3): 171-177.

46. SAS INSTITUTE. 2005. Guide to personal computers, version 9.2. Cary, NC. s.p.
47. SCALES, G.H.; KNIGHT, T.L.; SAVILLE, D.J. 1995. Effect of herbage species and feeding level on internal parasites and production performance of grazing lambs. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 38: 237 – 247
48. SNIFFEN, C.J.; O`CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets; II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*. 70 (11): 3562-3577.
49. SOLIVA, C.R.; HESS, H.D. 2007. Measuring methane emission of ruminants by in vitro and in vivo techniques. *Institute of Animal Science*. In: Makkar, H.P.S.; Vercoe, P.E. eds. *Measuring methane production from ruminants*. Zurich, Springer. pp. 15 - 31.
50. \_\_\_\_\_.; ZELEKE, A.B.; CLEMENT, C.; HESS, H.D.; FIEVEZ, V.; KREUZER, M. 2008. *In vitro* screening of various tropical foliages, seeds, fruits and medicinal plants for low methane and high ammonia generating potentials in the rumen. *Animal Feed Science and Technology*. 147: 53-71.
51. STEWART, A.V. 1996. Plantain (*Plantago lanceolata*) – a potential pasture species. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*. 58: 77-86.
52. TAVENDALE, M.H.; MEAGHER, L.P.; PACHECO, D.; WALKER, N.; ATTWOOD, G.T.; SIVAKUMARAN, S. 2005. Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology*. 123-124: 403-419.
53. THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; McALLAN, A.B.; FRANCE, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 48: 185 - 197.

54. TURNER, K.E.; BELESKY, D.P.; FEDDERS, J.M. 1999. Chicory effects on lamb weight gain and rate of in vitro organic matter and fiber disappearance. *Agronomy Journal*. 91: 445-450.
55. VAN SOEST, P.J.; ROBERSTON, J.B.; LEWIS, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74 (5):3583-3597.
56. VOLESKY, J.D. 1996. Forage production and grazing management of chicory. *Journal of Production Agriculture*. 9 (3): 403-406.

## 10. ANEXOS

## ANEXO No. 2

Hortalizas de raíz y tubérculo Feller et al., 1995a

Codificación BBCH de los estadios fenológicos de desarrollo de las hortalizas de raíz y tubérculo

(Zanahoria = *Daucus carota* ssp. *Sativus*, Escorzonera / Salsifi negro = *Scorzonera hispanica* L., Achicoria (de Bruselas) = *Cichorium intybus* L. var. *foliosum* HEGI, Rábano y Rabanillo = *Raphanus* L. spec., Pastinaca = *Pastinaca sativa* L., *Petroselinum crispum* var. *Tuberosum*, Nabo gallego = *Brassica rapa* L. ssp. *rapa* METZG., Colinabo / Rutabaga = *Brassica napus* L. ssp. *rapifera* METZG., Apio nabo = *Aplum graveolens* L. var. *rapaceum* GAUD., Col rápano = *Brassica oleracea* L. var. *gongyloides* L.)

Código	Descripción
<b>Estadio principal 0. Germinación</b>	
00	Semilla seca
01	Comienza la imbibición de la semilla
03	Imbibición completa
05	La radícula emerge de la semilla
07	El hipocotilo con los cotiledones atraviesan el tegumento seminal
09	Emergencia: los cotiledones salen a la superficie del suelo
<b>Estadio principal 1. Desarrollo de las hojas (tallo principal)</b>	
10	Cotiledones completamente desplegados: punto de crecimiento o el inicio de la hoja verdadera, visible
11	Primera hoja verdadera desplegada
12	2a hoja verdadera desplegada
13	3a hoja verdadera desplegada
14	Los estadios continúan hasta
19	9 o más hojas verdaderas desplegadas
<b>Estadio principal 4. Desarrollo de las partes vegetativas cosechables</b>	
41	Raíces, bulbos o tubérculos comienzan a crecer (diámetro > 0.5 cm)
42	Se alcanza el 20 % del diámetro esperado para la raíz, bulbo o tubérculo
43	Se alcanza el 30 % del diámetro esperado para la raíz, bulbo o tubérculo
44	Se alcanza el 40 % del diámetro esperado para la raíz, bulbo o tubérculo
45	Se alcanza el 50 % del diámetro esperado para la raíz, bulbo o tubérculo
46	Se alcanza el 60 % del diámetro esperado para la raíz, bulbo o tubérculo
47	Se alcanza el 70 % del diámetro esperado para la raíz, bulbo o tubérculo
48	Se alcanza el 80 % del diámetro esperado para la raíz, bulbo o tubérculo
49	Se alcanza la forma y el tamaño típico de las raíces, bulbos o tubérculos
<b>Estadio principal 5. Aparición del órgano floral</b>	
51	El tallo principal comienza a brotar
53	Se alcanza el 30 % de la altura final del tallo principal
55	Primeras flores individuales son visibles en la inflorescencia principal (cerradas todavía)
57	Primeras flores individuales visibles en las inflorescencias secundarias (cerradas todavía)
59	Primeros pétalos visibles; flores cerradas



## Hortalizas de raíz y tubérculo Feller et al., 1995a

Codificación BBCH de los estadios fenológicos de desarrollo de las hortalizas de raíz y tubérculo

Código	Descripción
<b>Estadio principal 6. Floración</b>	
60	Primeras flores abiertas (esporádicamente)
61	Comienzo de la floración: 10 % de las flores abiertas
62	20 % de las flores abiertas
63	30 % de las flores abiertas
64	40 % de las flores abiertas
65	Plena floración: 50 % de las flores abiertas
67	Floración declina: la mayoría de los pétalos caídos o secos
69	Fin de la floración
<b>Estadio principal 7. Formación del fruto</b>	
71	Primeros frutos formados
72	20 % de los frutos alcanzan el tamaño típico
73	30 % de los frutos alcanzan el tamaño típico
74	40 % de los frutos alcanzan el tamaño típico
75	50 % de los frutos alcanzan el tamaño típico
76	60 % de los frutos alcanzan el tamaño típico
77	70 % de los frutos alcanzan el tamaño típico
78	80 % de los frutos alcanzan el tamaño típico
79	Todos los frutos alcanzan el tamaño típico
<b>Estadio principal 8. Maduración de frutos y semillas</b>	
81	Comienza la maduración: 10 % de los frutos maduros, o 10 % de las semillas con el color típico, secas y duras
85	50 % de los frutos maduros, o 50 % de las semillas con el color típico, secas y duras
89	Madurez completa: Semillas de toda la planta de color y dureza típicos
<b>Estadio principal 9. Senescencia</b>	
92	Las hojas y brotes comienzan a decolorarse
95	50 % de las hojas amarillas o muertas
97	Las plantas o sus partes superiores mueren
99	Partes cosechadas (semillas)

## ANEXO No. 2. Información estadística de caracterización fenológica.

### ALTURA

#### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	0.03	0.8743
ALT	2	164	1060.03	<.0001
ESP*ALT	2	164	0.33	0.7200

#### Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	ACH	LL			-0.02966	0.1656	2	-0.18	0.8743	Tukey-Kramer	0.8743
ALT		15	20		-4.8015	0.1998	164	-24.03	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ALT		15	25		-9.4202	0.2047	164	-46.02	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ALT		20	25		-4.6187	0.2039	164	-22.65	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	ACH	20	-4.7530	0.2838	164	-16.75	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	ACH	25	-9.5337	0.2974	164	-32.06	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	LL	15	-0.07299	0.2838	164	-0.26	0.7974	Tukey-Kramer	0.9998
ESP*ALT	ACH	15	LL	20	-4.9230	0.2838	164	-17.35	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	LL	25	-9.3797	0.2838	164	-33.05	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	20	ACH	25	-4.7807	0.2951	164	-16.20	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	20	LL	15	4.6800	0.2814	164	16.63	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	20	LL	20	-0.1700	0.2814	164	-0.60	0.5466	Tukey-Kramer	0.9906
ESP*ALT	ACH	20	LL	25	-4.6267	0.2814	164	-16.44	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	25	LL	15	9.4607	0.2951	164	32.06	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	25	LL	20	4.6107	0.2951	164	15.62	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	25	LL	25	0.1540	0.2951	164	0.52	0.6025	Tukey-Kramer	0.9952
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-4.8500	0.2814	164	-17.24	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-9.3067	0.2814	164	-33.08	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-4.4567	0.2814	164	-15.84	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001

### NUMERO DE HOJAS

Effect	DF	DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	2.11	0.2833
ALT	2	164	19.73	<.0001
ESP*ALT	2	164	7.17	0.0010

The Mixed Procedure Differences of Least Squares Means

Standard

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	ACH	LL			1.1103	0.7639	2	1.45	0.2833	Tukey-Kramer	0.2833
ALT	15	20	-0.7499	0.4248	164	-1.77	0.0794	Tukey-Kramer	0.1846		
ALT	15	25	-2.6652	0.4356	164	-6.12	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001		
ALT	20	25	-1.9153	0.4341	164	-4.41	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001		
ESP*ALT	ACH	15	ACH	20	-0.4331	0.6034	164	-0.72	0.4739	Tukey-Kramer	0.9796
ESP*ALT	ACH	15	ACH	25	-1.0971	0.6333	164	-1.73	0.0851	Tukey-Kramer	0.5126
ESP*ALT	ACH	15	LL	15	2.3669	0.9074	164	2.61	0.0099	Tukey-Kramer	0.1010
ESP*ALT	ACH	15	LL	20	1.3002	0.9074	164	1.43	0.1538	Tukey-Kramer	0.7069
ESP*ALT	ACH	15	LL	25	-1.8665	0.9074	164	-2.06	0.0413	Tukey-Kramer	0.3152
ESP*ALT	ACH	20	ACH	25	-0.6639	0.6292	164	-1.06	0.2929	Tukey-Kramer	0.8981
ESP*ALT	ACH	20	LL	15	2.8000	0.9039	164	3.10	0.0023	Tukey-Kramer	0.0273
ESP*ALT	ACH	20	LL	20	1.7333	0.9039	164	1.92	0.0569	Tukey-Kramer	0.3951
ESP*ALT	ACH	20	LL	25	-1.4333	0.9039	164	-1.59	0.1147	Tukey-Kramer	0.6091
ESP*ALT	ACH	25	LL	15	3.4639	0.9247	164	3.75	0.0002	Tukey-Kramer	0.0033
ESP*ALT	ACH	25	LL	20	2.3973	0.9247	164	2.59	0.0104	Tukey-Kramer	0.1049
ESP*ALT	ACH	25	LL	25	-0.7694	0.9247	164	-0.83	0.4066	Tukey-Kramer	0.9612
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-1.0667	0.5982	164	-1.78	0.0764	Tukey-Kramer	0.4794
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-4.2333	0.5982	164	-7.08	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-3.1667	0.5982	164	-5.29	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001

**LARGO DE HOJAS**

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	0.03	0.8787
ALT	2	164	135.72	<.0001
ESP*ALT	2	164	1.12	0.3292

Differences of Least Squares Means Standard

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	ACH	LL			-0.08816	0.5102	2	-0.17	0.8787	Tukey-Kramer	0.8787
ALT	15	20	-3.0714	0.3090	164	-9.94	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001		
ALT	15	25	-5.1723	0.3168	164	-16.33	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001		
ALT	20	25	-2.1008	0.3157	164	-6.66	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001		
ESP*ALT	ACH	15	ACH	20	-2.8428	0.4389	164	-6.48	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	ACH	25	-5.4159	0.4606	164	-11.76	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	LL	15	-0.09817	0.6222	164	-0.16	0.8748	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	ACH	15	LL	20	-3.3982	0.6222	164	-5.46	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	LL	25	-5.0268	0.6222	164	-8.08	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001

ESP*ALT	ACH	20	ACH	25	-2.5730	0.4575	164	-5.62	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	20	LL	15	2.7447	0.6195	164	4.43	<.0001	Tukey-Kramer	0.0002
ESP*ALT	ACH	20	LL	20	-0.5553	0.6195	164	-0.90	0.3714	Tukey-Kramer	0.9469
ESP*ALT	ACH	20	LL	25	-2.1840	0.6195	164	-3.53	0.0005	Tukey-Kramer	0.0071
ESP*ALT	ACH	25	LL	15	5.3177	0.6355	164	8.37	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	25	LL	20	2.0177	0.6355	164	3.18	0.0018	Tukey-Kramer	0.0217
ESP*ALT	ACH	25	LL	25	0.3890	0.6355	164	0.61	0.5413	Tukey-Kramer	0.9900
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-3.3000	0.4351	164	-7.58	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-4.9287	0.4351	164	-11.33	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-1.6287	0.4351	164	-3.74	0.0003	Tukey-Kramer	0.0034

### ANCHO DE HOJAS

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	231.22	0.0043
ALT	2	164	49.99	<.0001
ESP*ALT	2	164	5.34	0.0056

### Differences of Least Squares Means Standard

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	ACH	LL			0.8664	0.05698	2	15.21	0.0043	Tukey-Kramer	0.0043
ALT	15	20			-0.3690	0.06875	164	-5.37	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ALT	15	25			-0.7034	0.07044	164	-9.99	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ALT	20	25			-0.3344	0.07015	164	-4.77	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	ACH	20	-0.1596	0.09765	164	-1.63	0.1041	Tukey-Kramer	0.5771
ESP*ALT	ACH	15	ACH	25	-0.6708	0.1023	164	-6.55	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	LL	15	1.0277	0.09765	164	10.52	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	15	LL	20	0.4494	0.09765	164	4.60	<.0001	Tukey-Kramer	0.0001
ESP*ALT	ACH	15	LL	25	0.2917	0.09765	164	2.99	0.0032	Tukey-Kramer	0.0375
ESP*ALT	ACH	20	ACH	25	-0.5112	0.1015	164	-5.03	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	20	LL	15	1.1873	0.09682	164	12.26	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	20	LL	20	0.6090	0.09682	164	6.29	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	20	LL	25	0.4513	0.09682	164	4.66	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	25	LL	15	1.6985	0.1015	164	16.73	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	25	LL	20	1.1202	0.1015	164	11.03	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	ACH	25	LL	25	0.9625	0.1015	164	9.48	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-0.5783	0.09682	164	-5.97	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-0.7360	0.09682	164	-7.60	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-0.1577	0.09682	164	-1.63	0.1053	Tukey-Kramer	0.5810

### INDICE DE FELLER

#### Type 3 Tests of Fixed Effects

Num	Den
-----	-----

Effect	DF	DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	5.94	0.1351
ALT	2	164	21.10	<.0001
ESP*ALT	2	164	5.73	0.0039

The Mixed Procedure Differences of Least Squares Means Standard

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	ACH	LL			0.1277	0.05242	2	2.44	0.1351	Tukey-Kramer	0.1351
ALT	15	20			-0.06617	0.02471	164	-2.68	0.0082	Tukey-Kramer	0.0221
ALT	15	25			-0.1639	0.02533	164	-6.47	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ALT	20	25			-0.09777	0.02525	164	-3.87	0.0002	Tukey-Kramer	0.0005
ESP*ALT	ACH	15	ACH	20	-0.05568	0.03510	164	-1.59	0.1146	Tukey-Kramer	0.6087
ESP*ALT	ACH	15	ACH	25	-0.08455	0.03684	164	-2.30	0.0230	Tukey-Kramer	0.2019
ESP*ALT	ACH	15	LL	15	0.1877	0.05966	164	3.15	0.0020	Tukey-Kramer	0.0237
ESP*ALT	ACH	15	LL	20	0.1110	0.05966	164	1.86	0.0646	Tukey-Kramer	0.4303
ESP*ALT	ACH	15	LL	25	-0.05568	0.05966	164	-0.93	0.3521	Tukey-Kramer	0.9374
ESP*ALT	ACH	20	ACH	25	-0.02887	0.03660	164	-0.79	0.4313	Tukey-Kramer	0.9691
ESP*ALT	ACH	20	LL	15	0.2433	0.05948	164	4.09	<.0001	Tukey-Kramer	0.0009
ESP*ALT	ACH	20	LL	20	0.1667	0.05948	164	2.80	0.0057	Tukey-Kramer	0.0621
ESP*ALT	ACH	20	LL	25	1.63E-14	0.05948	164	0.00	1.0000	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	ACH	25	LL	15	0.2722	0.06055	164	4.50	<.0001	Tukey-Kramer	0.0002
ESP*ALT	ACH	25	LL	20	0.1955	0.06055	164	3.23	0.0015	Tukey-Kramer	0.0184
ESP*ALT	ACH	25	LL	25	0.02887	0.06055	164	0.48	0.6341	Tukey-Kramer	0.9969
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-0.07667	0.03479	164	-2.20	0.0289	Tukey-Kramer	0.2417
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-0.2433	0.03479	164	-6.99	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-0.1667	0.03479	164	-4.79	<.0001	Tukey-Kramer	<.0001

## ANEXO No. 2. Información estadística de composición química y valor nutritivo.

### MATERIA SECA

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	2.44	0.2587
ALT	2	8	0.02	0.9779
ESP*ALT	2	8	1.43	0.2946

Differences of Least Squares Means

Standard

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			-0.3678	0.2355	2	-1.56	0.2587	Tukey-Kramer	0.2587
ALT	15	20	0.04000	0.2884	8	0.14	0.8931	Tukey-Kramer	0.9895		
ALT	15	25	-0.02000	0.2884	8	-0.07	0.9464	Tukey-Kramer	0.9974		
ALT	20	25	-0.06000	0.2884	8	-0.21	0.8404	Tukey-Kramer	0.9765		
ESP*ALT	A	15	A	20	0.2567	0.4079	8	0.63	0.5467	Tukey-Kramer	0.9853
ESP*ALT	A	15	A	25	-0.2900	0.4079	8	-0.71	0.4973	Tukey-Kramer	0.9751
ESP*ALT	A	15	LL	15	-0.4033	0.4079	8	-0.99	0.3517	Tukey-Kramer	0.9093
ESP*ALT	A	15	LL	20	-0.5800	0.4079	8	-1.42	0.1928	Tukey-Kramer	0.7157
ESP*ALT	A	15	LL	25	-0.1533	0.4079	8	-0.38	0.7167	Tukey-Kramer	0.9986
ESP*ALT	A	20	A	25	-0.5467	0.4079	8	-1.34	0.2170	Tukey-Kramer	0.7581
ESP*ALT	A	20	LL	15	-0.6600	0.4079	8	-1.62	0.1443	Tukey-Kramer	0.6102
ESP*ALT	A	20	LL	20	-0.8367	0.4079	8	-2.05	0.0744	Tukey-Kramer	0.3931
ESP*ALT	A	20	LL	25	-0.4100	0.4079	8	-1.01	0.3442	Tukey-Kramer	0.9039
ESP*ALT	A	25	LL	15	-0.1133	0.4079	8	-0.28	0.7882	Tukey-Kramer	0.9997
ESP*ALT	A	25	LL	20	-0.2900	0.4079	8	-0.71	0.4973	Tukey-Kramer	0.9751
ESP*ALT	A	25	LL	25	0.1367	0.4079	8	0.34	0.7462	Tukey-Kramer	0.9992
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-0.1767	0.4079	8	-0.43	0.6764	Tukey-Kramer	0.9973
ESP*ALT	LL	15	LL	25	0.2500	0.4079	8	0.61	0.5569	Tukey-Kramer	0.9869
ESP*ALT	LL	20	LL	25	0.4267	0.4079	8	1.05	0.3261	Tukey-Kramer	0.8894

## CENIZAS

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	9.02	0.0953
ALT	2	8	9.52	0.0077
ESP*ALT	2	8	6.60	0.0203

### Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			-1.4300	0.4763	2	-3.00	0.0953	Tukey-Kramer	0.0953
ALT	15	20	1.0533	0.2542	8	4.14	0.0032	Tukey-Kramer	0.0081		
ALT	15	25	0.8283	0.2542	8	3.26	0.0116	Tukey-Kramer	0.0279		
ALT	20	25	-0.2250	0.2542	8	-0.89	0.4020	Tukey-Kramer	0.6641		
ESP*ALT	A	15	A	20	0.1300	0.3595	8	0.36	0.7270	Tukey-Kramer	0.9988
ESP*ALT	A	15	A	25	0.3867	0.3595	8	1.08	0.3135	Tukey-Kramer	0.8783
ESP*ALT	A	15	LL	15	-2.3400	0.5595	8	-4.18	0.0031	Tukey-Kramer	0.0251
ESP*ALT	A	15	LL	20	-0.3633	0.5595	8	-0.65	0.5343	Tukey-Kramer	0.9831
ESP*ALT	A	15	LL	25	-1.0700	0.5595	8	-1.91	0.0922	Tukey-Kramer	0.4576
ESP*ALT	A	20	A	25	0.2567	0.3595	8	0.71	0.4956	Tukey-Kramer	0.9747
							The SAS System 23:18 Saturday, October 20, 2001 109				
ESP*ALT	A	20	LL	15	-2.4700	0.5595	8	-4.41	0.0022	Tukey-Kramer	0.0187

ESP*ALT	A	20	LL	20	-0.4933	0.5595	8	-0.88	0.4036	Tukey-Kramer	0.9408
ESP*ALT	A	20	LL	25	-1.2000	0.5595	8	-2.14	0.0643	Tukey-Kramer	0.3531
ESP*ALT	A	25	LL	15	-2.7267	0.5595	8	-4.87	0.0012	Tukey-Kramer	0.0106
ESP*ALT	A	25	LL	20	-0.7500	0.5595	8	-1.34	0.2169	Tukey-Kramer	0.7579
ESP*ALT	A	25	LL	25	-1.4567	0.5595	8	-2.60	0.0314	Tukey-Kramer	0.2006
ESP*ALT	LL	15	LL	20	1.9767	0.3595	8	5.50	0.0006	Tukey-Kramer	0.0051
ESP*ALT	LL	15	LL	25	1.2700	0.3595	8	3.53	0.0077	Tukey-Kramer	0.0587
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-0.7067	0.3595	8	-1.97	0.0849	Tukey-Kramer	0.4322

## FDN

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	8.34	0.1019
ALT	2	8	9.12	0.0086
ESP*ALT	2	8	0.08	0.9201

### Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			1.9333	0.6694	2	2.89	0.1019	Tukey	0.1019
ALT		15	20		-3.2033	0.7550	8	-4.24	0.0028	Tukey-Kramer	0.0071
ALT		15	25		-1.9150	0.7550	8	-2.54	0.0349	Tukey-Kramer	0.0802
ALT		20	25		1.2883	0.7550	8	1.71	0.1263	Tukey-Kramer	0.2609
ESP*ALT	A	15	A	20	-2.9467	1.0677	8	-2.76	0.0247	Tukey-Kramer	0.1639
ESP*ALT	A	15	A	25	-1.6367	1.0677	8	-1.53	0.1638	Tukey-Kramer	0.6563
ESP*ALT	A	15	LL	15	2.2900	1.0991	8	2.08	0.0707	Tukey-Kramer	0.3790
ESP*ALT	A	15	LL	20	-1.1700	1.0991	8	-1.06	0.3182	Tukey-Kramer	0.8825
ESP*ALT	A	15	LL	25	0.09667	1.0991	8	0.09	0.9321	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	A	20	A	25	1.3100	1.0677	8	1.23	0.2547	Tukey-Kramer	0.8135
ESP*ALT	A	20	LL	15	5.2367	1.0991	8	4.76	0.0014	Tukey-Kramer	0.0121
ESP*ALT	A	20	LL	20	1.7767	1.0991	8	1.62	0.1447	Tukey-Kramer	0.6111
ESP*ALT	A	20	LL	25	3.0433	1.0991	8	2.77	0.0243	Tukey-Kramer	0.1619
ESP*ALT	A	25	LL	15	3.9267	1.0991	8	3.57	0.0073	Tukey-Kramer	0.0557
ESP*ALT	A	25	LL	20	0.4667	1.0991	8	0.42	0.6823	Tukey-Kramer	0.9975
ESP*ALT	A	25	LL	25	1.7333	1.0991	8	1.58	0.1534	Tukey-Kramer	0.6324
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-3.4600	1.0677	8	-3.24	0.0119	Tukey-Kramer	0.0866
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-2.1933	1.0677	8	-2.05	0.0740	Tukey-Kramer	0.3917
ESP*ALT	LL	20	LL	25	1.2667	1.0677	8	1.19	0.2695	Tukey-Kramer	0.8320

## FDA

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
--------	-----------	-----------	---------	--------

ESP	1	2	0.13	0.7554
ALT	2	8	3.65	0.0749 (Tendencia)
ESP*ALT	2	8	1.05	0.3939

Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard		DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
					Estimate	Error					
ESP	A	LL			0.4689	1.3146	2	0.36	0.7554	Tukey	0.7554
ALT	15	20	-3.4000	1.2685	8	-2.68	0.0279	Tukey-Kramer	0.0649		
ALT	15	25	-2.0617	1.2685	8	-1.63	0.1427	Tukey-Kramer	0.2903		
ALT	20	25	1.3383	1.2685	8	1.06	0.3222	Tukey-Kramer	0.5657		
ESP*ALT	A	15	A	20	-1.8267	1.7939	8	-1.02	0.3383	Tukey-Kramer	0.8993
ESP*ALT	A	15	A	25	-0.4533	1.7939	8	-0.25	0.8069	Tukey-Kramer	0.9998
ESP*ALT	A	15	LL	15	2.5900	1.9681	8	1.32	0.2246	Tukey-Kramer	0.7703
ESP*ALT	A	15	LL	20	-2.3833	1.9681	8	-1.21	0.2605	Tukey-Kramer	0.8209
ESP*ALT	A	15	LL	25	-1.0800	1.9681	8	-0.55	0.5981	Tukey-Kramer	0.9920
ESP*ALT	A	20	A	25	1.3733	1.7939	8	0.77	0.4659	Tukey-Kramer	0.9662
ESP*ALT	A	20	LL	15	4.4167	1.9681	8	2.24	0.0551	Tukey-Kramer	0.3141
ESP*ALT	A	20	LL	20	-0.5567	1.9681	8	-0.28	0.7845	Tukey-Kramer	0.9996
ESP*ALT	A	20	LL	25	0.7467	1.9681	8	0.38	0.7143	Tukey-Kramer	0.9985
ESP*ALT	A	25	LL	15	3.0433	1.9681	8	1.55	0.1606	Tukey-Kramer	0.6490
ESP*ALT	A	25	LL	20	-1.9300	1.9681	8	-0.98	0.3555	Tukey-Kramer	0.9120
ESP*ALT	A	25	LL	25	-0.6267	1.9681	8	-0.32	0.7583	Tukey-Kramer	0.9994
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-4.9733	1.7939	8	-2.77	0.0242	Tukey-Kramer	0.1612
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-3.6700	1.7939	8	-2.05	0.0750	Tukey-Kramer	0.3955
ESP*ALT	LL	20	LL	25	1.3033	1.7939	8	0.73	0.4882	Tukey-Kramer	0.9728

**LIGNINA**

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num		Den		F Value	Pr > F
	DF	DF	DF	DF		
ESP	1	2	1.12	0.4002		
ALT	2	8	1.38	0.3047		
ESP*ALT	2	8	0.17	0.8464		

Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard		DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
					Estimate	Error					
ESP	A	LL			1.2911	1.2179	2	1.06	0.4002	Tukey	0.4002
ALT	15	20	-2.0917	1.3185	8	-1.59	0.1513	Tukey-Kramer	0.3054		
ALT	15	25	-0.4733	1.3185	8	-0.36	0.7289	Tukey-Kramer	0.9320		
ALT	20	25	1.6183	1.3185	8	1.23	0.2546	Tukey-Kramer	0.4712		



ESP*ALT	A	15	A	20	-1.6500	1.8647	8	-0.88	0.4020	Tukey-Kramer	0.9400
ESP*ALT	A	15	A	25	0.2933	1.8647	8	0.16	0.8789	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	A	15	LL	15	2.0967	1.9497	8	1.08	0.3136	Tukey-Kramer	0.8783
ESP*ALT	A	15	LL	20	-0.4367	1.9497	8	-0.22	0.8284	Tukey-Kramer	0.9999
ESP*ALT	A	15	LL	25	0.8567	1.9497	8	0.44	0.6720	Tukey-Kramer	0.9971
ESP*ALT	A	20	A	25	1.9433	1.8647	8	1.04	0.3278	Tukey-Kramer	0.8908
ESP*ALT	A	20	LL	15	3.7467	1.9497	8	1.92	0.0909	Tukey-Kramer	0.4531
ESP*ALT	A	20	LL	20	1.2133	1.9497	8	0.62	0.5511	Tukey-Kramer	0.9859
ESP*ALT	A	20	LL	25	2.5067	1.9497	8	1.29	0.2345	Tukey-Kramer	0.7854
ESP*ALT	A	25	LL	15	1.8033	1.9497	8	0.92	0.3821	Tukey-Kramer	0.9291
ESP*ALT	A	25	LL	20	-0.7300	1.9497	8	-0.37	0.7178	Tukey-Kramer	0.9986
ESP*ALT	A	25	LL	25	0.5633	1.9497	8	0.29	0.7800	Tukey-Kramer	0.9996
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-2.5333	1.8647	8	-1.36	0.2113	Tukey-Kramer	0.7487
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-1.2400	1.8647	8	-0.66	0.5248	Tukey-Kramer	0.9813
ESP*ALT	LL	20	LL	25	1.2933	1.8647	8	0.69	0.5076	Tukey-Kramer	0.9776

## DIVMO

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	0.65	0.5059
ALT	2	8	1.34	0.3157
ESP*ALT	2	8	4.54	0.0481

### Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			1.7767	2.2105	2	0.80	0.5059	Tukey	0.5059
ALT		15	20		2.0267	1.3064	8	1.55	0.1594	Tukey-Kramer	0.3194
ALT		15	25		0.4300	1.3064	8	0.33	0.7505	Tukey-Kramer	0.9425
ALT		20	25		-1.5967	1.3064	8	-1.22	0.2564	Tukey-Kramer	0.4739
ESP*ALT	A	15	A	20	2.0533	1.8475	8	1.11	0.2987	Tukey-Kramer	0.8641
ESP*ALT	A	15	A	25	-2.9667	1.8475	8	-1.61	0.1470	Tukey-Kramer	0.6168
ESP*ALT	A	15	LL	15	-0.4700	2.6761	8	-0.18	0.8650	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	A	15	LL	20	1.5300	2.6761	8	0.57	0.5832	Tukey-Kramer	0.9903
ESP*ALT	A	15	LL	25	3.3567	2.6761	8	1.25	0.2451	Tukey-Kramer	0.8006
ESP*ALT	A	20	A	25	-5.0200	1.8475	8	-2.72	0.0264	Tukey-Kramer	0.1732
ESP*ALT	A	20	LL	15	-2.5233	2.6761	8	-0.94	0.3733	Tukey-Kramer	0.9238
ESP*ALT	A	20	LL	20	-0.5233	2.6761	8	-0.20	0.8498	Tukey-Kramer	0.9999
ESP*ALT	A	20	LL	25	1.3033	2.6761	8	0.49	0.6393	Tukey-Kramer	0.9953
ESP*ALT	A	25	LL	15	2.4967	2.6761	8	0.93	0.3781	Tukey-Kramer	0.9268
ESP*ALT	A	25	LL	20	4.4967	2.6761	8	1.68	0.1314	Tukey-Kramer	0.5768
ESP*ALT	A	25	LL	25	6.3233	2.6761	8	2.36	0.0458	Tukey-Kramer	0.2718
ESP*ALT	LL	15	LL	20	2.0000	1.8475	8	1.08	0.3106	Tukey-Kramer	0.8756
ESP*ALT	LL	15	LL	25	3.8267	1.8475	8	2.07	0.0721	Tukey-Kramer	0.3843
ESP*ALT	LL	20	LL	25	1.8267	1.8475	8	0.99	0.3518	Tukey-Kramer	0.9094

## ENERGIA BRUTA

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	2.45	0.2578
ALT	2	8	0.29	0.7551
ESP*ALT	2	8	8.34	0.0110

### Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			0.2056	0.1312	2	1.57	0.2578	Tukey-Kramer	0.2578
ALT		15	20		0.05667	0.1025	8	0.55	0.5954	Tukey-Kramer	0.8479
ALT		15	25		0.07500	0.1025	8	0.73	0.4852	Tukey-Kramer	0.7524
ALT		20	25		0.01833	0.1025	8	0.18	0.8625	Tukey-Kramer	0.9826
ESP*ALT	A	15	A	20	0.4667	0.1449	8	3.22	0.0122	Tukey-Kramer	0.0891
ESP*ALT	A	15	A	25	0.2067	0.1449	8	1.43	0.1918	Tukey-Kramer	0.7137
ESP*ALT	A	15	LL	15	0.5667	0.1767	8	3.21	0.0125	Tukey-Kramer	0.0907
ESP*ALT	A	15	LL	20	0.2133	0.1767	8	1.21	0.2618	Tukey-Kramer	0.8226
ESP*ALT	A	15	LL	25	0.5100	0.1767	8	2.89	0.0203	Tukey-Kramer	0.1388
ESP*ALT	A	20	A	25	-0.2600	0.1449	8	-1.79	0.1106	Tukey-Kramer	0.5171
ESP*ALT	A	20	LL	15	0.1000	0.1767	8	0.57	0.5870	Tukey-Kramer	0.9908
ESP*ALT	A	20	LL	20	-0.2533	0.1767	8	-1.43	0.1896	Tukey-Kramer	0.7096
ESP*ALT	A	20	LL	25	0.04333	0.1767	8	0.25	0.8125	Tukey-Kramer	0.9998
ESP*ALT	A	25	LL	15	0.3600	0.1767	8	2.04	0.0760	Tukey-Kramer	0.3994
ESP*ALT	A	25	LL	20	0.006667	0.1767	8	0.04	0.9708	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	A	25	LL	25	0.3033	0.1767	8	1.72	0.1244	Tukey-Kramer	0.5575
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-0.3533	0.1449	8	-2.44	0.0407	Tukey-Kramer	0.2477
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-0.05667	0.1449	8	-0.39	0.7060	Tukey-Kramer	0.9983
ESP*ALT	LL	20	LL	25	0.2967	0.1449	8	2.05	0.0749	Tukey-Kramer	0.3951

## ENERGIA METABOLICA

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	2.42	0.2597
ALT	2	8	0.55	0.5999
ESP*ALT	2	8	4.71	0.0444

### Differences of Least Squares Means

#### Standard

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			0.09111	0.05851	2	1.56	0.2597	Tukey	0.2597
ALT	15	20			0.03333	0.04105	8	0.81	0.4403	Tukey-Kramer	0.7065
ALT	15	25			-0.00667	0.04105	8	-0.16	0.8750	Tukey-Kramer	0.9856
ALT	20	25			-0.04000	0.04105	8	-0.97	0.3584	Tukey-Kramer	0.6121
ESP*ALT	A	15	A	20	0.06000	0.05805	8	1.03	0.3316	Tukey-Kramer	0.8939
ESP*ALT	A	15	A	25	-0.1000	0.05805	8	-1.72	0.1233	Tukey-Kramer	0.5543
ESP*ALT	A	15	LL	15	0.04667	0.07530	8	0.62	0.5527	Tukey-Kramer	0.9862
ESP*ALT	A	15	LL	20	0.05333	0.07530	8	0.71	0.4989	Tukey-Kramer	0.9755
ESP*ALT	A	15	LL	25	0.1333	0.07530	8	1.77	0.1146	Tukey-Kramer	0.5290
ESP*ALT	A	20	A	25	-0.1600	0.05805	8	-2.76	0.0248	Tukey-Kramer	0.1647
ESP*ALT	A	20	LL	15	-0.01333	0.07530	8	-0.18	0.8639	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	A	20	LL	20	-0.00667	0.07530	8	-0.09	0.9316	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	A	20	LL	25	0.07333	0.07530	8	0.97	0.3586	Tukey-Kramer	0.9142
ESP*ALT	A	25	LL	15	0.1467	0.07530	8	1.95	0.0873	Tukey-Kramer	0.4406
ESP*ALT	A	25	LL	20	0.1533	0.07530	8	2.04	0.0761	Tukey-Kramer	0.3998
ESP*ALT	A	25	LL	25	0.2333	0.07530	8	3.10	0.0147	Tukey-Kramer	0.1047
ESP*ALT	LL	15	LL	20	0.006667	0.05805	8	0.11	0.9114	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	LL	15	LL	25	0.08667	0.05805	8	1.49	0.1738	Tukey-Kramer	0.6779
ESP*ALT	LL	20	LL	25	0.08000	0.05805	8	1.38	0.2055	Tukey-Kramer	0.7387

**ANEXO No. 3.** Información estadística de características proteicas y fracciones de Cornell.

**PC**

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	37.37	0.0257
ALT	2	8	0.89	0.4473 (no hubo diferencias)
ESP*ALT	2	8	11.09	0.0049

Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ALT	15	20			-0.2450	0.6058	8	-0.40	0.6965	Tukey-Kramer	0.9147
ALT	15	25			0.5450	0.6058	8	0.90	0.3946	Tukey-Kramer	0.6556
ALT	20	25			0.7900	0.6058	8	1.30	0.2285	Tukey-Kramer	0.4319
ESP	A	LL			4.9011	0.8018	2	6.11	0.0257	Tukey-Kramer	0.0257
ESP*ALT	A	15	A	20	-2.6000	0.8568	8	-3.03	0.0162	Tukey-Kramer	0.1140
ESP*ALT	A	15	A	25	-2.0267	0.8568	8	-2.37	0.0456	Tukey-Kramer	0.2710

ESP*ALT	A	15	LL	15	1.6167	1.0641	8	1.52	0.1672	Tukey-Kramer	0.6636
ESP*ALT	A	15	LL	20	3.7267	1.0641	8	3.50	0.0081	Tukey-Kramer	0.0611
ESP*ALT	A	15	LL	25	4.7333	1.0641	8	4.45	0.0021	Tukey-Kramer	0.0179
ESP*ALT	A	20	A	25	0.5733	0.8568	8	0.67	0.5222	Tukey-Kramer	0.9808

The SAS System 23:18 Saturday, October 20, 2001 148

## NIDN

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	17.71	0.0521
ALT	2	8	0.85	0.4612
ESP*ALT	2	8	1.11	0.3746

### Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ALT	15	20	-0.6917	0.5297	8	-1.31	0.2280	Tukey-Kramer	0.4311		
ALT	15	25	-0.3717	0.5297	8	-0.70	0.5028	Tukey-Kramer	0.7693		
ALT	20	25	0.3200	0.5297	8	0.60	0.5625	Tukey-Kramer	0.8219		
ESP	A	LL	2.5811	0.6133	2	4.21	0.0521	Tukey	0.0521		
ESP*ALT	A	15	A	20	-1.2133	0.7492	8	-1.62	0.1440	Tukey-Kramer	0.6094
ESP*ALT	A	15	A	25	-1.1467	0.7492	8	-1.53	0.1644	Tukey-Kramer	0.6575
ESP*ALT	A	15	LL	15	1.7167	0.8662	8	1.98	0.0828	Tukey-Kramer	0.4246
ESP*ALT	A	15	LL	20	1.5467	0.8662	8	1.79	0.1120	Tukey-Kramer	0.5213
ESP*ALT	A	15	LL	25	2.1200	0.8662	8	2.45	0.0401	Tukey-Kramer	0.2447
ESP*ALT	A	20	A	25	0.06667	0.7492	8	0.09	0.9313	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	A	20	LL	15	2.9300	0.8662	8	3.38	0.0096	Tukey-Kramer	0.0717
ESP*ALT	A	20	LL	20	2.7600	0.8662	8	3.19	0.0129	Tukey-Kramer	0.0932
ESP*ALT	A	20	LL	25	3.3333	0.8662	8	3.85	0.0049	Tukey-Kramer	0.0387
ESP*ALT	A	25	LL	15	2.8633	0.8662	8	3.31	0.0108	Tukey-Kramer	0.0795
ESP*ALT	A	25	LL	20	2.6933	0.8662	8	3.11	0.0145	Tukey-Kramer	0.1032
ESP*ALT	A	25	LL	25	3.2667	0.8662	8	3.77	0.0055	Tukey-Kramer	0.0428
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-0.1700	0.7492	8	-0.23	0.8262	Tukey-Kramer	0.9999
ESP*ALT	LL	15	LL	25	0.4033	0.7492	8	0.54	0.6050	Tukey-Kramer	0.9926
ESP*ALT	LL	20	LL	25	0.5733	0.7492	8	0.77	0.4661	Tukey-Kramer	0.9663

## A

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	0.44	0.5735

ALT	2	8	0.93	0.4329
ESP*ALT	2	8	0.97	0.4187

Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard		Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
					Estimate							
ESP	A	LL			-0.9544	1.4315	2	-0.67	0.5735	Tukey-Kramer	0.5735	
ALT	15	20			-2.1533	1.7532	8	-1.23	0.2543	Tukey-Kramer	0.4708	
ALT	15	25			-0.1733	1.7532	8	-0.10	0.9237	Tukey-Kramer	0.9946	
ALT	20	25			1.9800	1.7532	8	1.13	0.2915	Tukey-Kramer	0.5241	
ESP*ALT	A	15	A	20	-3.7833	2.4794	8	-1.53	0.1655	Tukey-Kramer	0.6600	
ESP*ALT	A	15	A	25	-2.5667	2.4794	8	-1.04	0.3308	Tukey-Kramer	0.8933	
ESP*ALT	A	15	LL	15	-3.6367	2.4794	8	-1.47	0.1806	Tukey-Kramer	0.6919	
ESP*ALT	A	15	LL	20	-4.1600	2.4794	8	-1.68	0.1319	Tukey-Kramer	0.5781	
ESP*ALT	A	15	LL	25	-1.4167	2.4794	8	-0.57	0.5834	Tukey-Kramer	0.9904	
ESP*ALT	A	20	A	25	1.2167	2.4794	8	0.49	0.6368	Tukey-Kramer	0.9952	
ESP*ALT	A	20	LL	15	0.1467	2.4794	8	0.06	0.9543	Tukey-Kramer	1.0000	
ESP*ALT	A	20	LL	20	-0.3767	2.4794	8	-0.15	0.8830	Tukey-Kramer	1.0000	
ESP*ALT	A	20	LL	25	2.3667	2.4794	8	0.95	0.3678	Tukey-Kramer	0.9203	
ESP*ALT	A	25	LL	15	-1.0700	2.4794	8	-0.43	0.6775	Tukey-Kramer	0.9973	
ESP*ALT	A	25	LL	20	-1.5933	2.4794	8	-0.64	0.5384	Tukey-Kramer	0.9838	
ESP*ALT	A	25	LL	25	1.1500	2.4794	8	0.46	0.6551	Tukey-Kramer	0.9963	
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-0.5233	2.4794	8	-0.21	0.8381	Tukey-Kramer	0.9999	
ESP*ALT	LL	15	LL	25	2.2200	2.4794	8	0.90	0.3967	Tukey-Kramer	0.9373	
ESP*ALT	LL	20	LL	25	2.7433	2.4794	8	1.11	0.3007	Tukey-Kramer	0.8661	

**B1**

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num		Den	F Value	Pr > F
	DF	DF			
ESP	1	2		0.63	0.5098
ALT	2	8		1.09	0.3808
ESP*ALT	2	8		0.30	0.7484

Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard		Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
					Estimate							
ESP	A	LL			1.2322	1.5492	2	0.80	0.5098	Tukey-Kramer	0.5098	
ALT	15	20			-0.9167	1.8974	8	-0.48	0.6419	Tukey-Kramer	0.8811	
ALT	15	25			-2.7533	1.8974	8	-1.45	0.1848	Tukey-Kramer	0.3622	
ALT	20	25			-1.8367	1.8974	8	-0.97	0.3614	Tukey-Kramer	0.6158	
ESP*ALT	A	15	A	20	-0.05333	2.6833	8	-0.02	0.9846	Tukey-Kramer	1.0000	
ESP*ALT	A	15	A	25	-1.2900	2.6833	8	-0.48	0.6436	Tukey-Kramer	0.9956	
ESP*ALT	A	15	LL	15	2.7833	2.6833	8	1.04	0.3299	Tukey-Kramer	0.8926	

ESP*ALT	A	15	LL	20	1.0033	2.6833	8	0.37	0.7182	Tukey-Kramer	0.9986
ESP*ALT	A	15	LL	25	-1.4333	2.6833	8	-0.53	0.6077	Tukey-Kramer	0.9929
ESP*ALT	A	20	A	25	-1.2367	2.6833	8	-0.46	0.6572	Tukey-Kramer	0.9964
ESP*ALT	A	20	LL	15	2.8367	2.6833	8	1.06	0.3213	Tukey-Kramer	0.8853
ESP*ALT	A	20	LL	20	1.0567	2.6833	8	0.39	0.7040	Tukey-Kramer	0.9983
ESP*ALT	A	20	LL	25	-1.3800	2.6833	8	-0.51	0.6209	Tukey-Kramer	0.9940
ESP*ALT	A	25	LL	15	4.0733	2.6833	8	1.52	0.1675	Tukey-Kramer	0.6643
ESP*ALT	A	25	LL	20	2.2933	2.6833	8	0.85	0.4176	Tukey-Kramer	0.9476
ESP*ALT	A	25	LL	25	-0.1433	2.6833	8	-0.05	0.9587	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-1.7800	2.6833	8	-0.66	0.5257	Tukey-Kramer	0.9815
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-4.2167	2.6833	8	-1.57	0.1547	Tukey-Kramer	0.6354
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-2.4367	2.6833	8	-0.91	0.3904	Tukey-Kramer	0.9338

## B2

### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	0.01	0.9306
ALT	2	8	11.32	0.0047
ESP*ALT	2	8	1.89	0.2128

### Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			0.3500	3.5582	2	0.10	0.9306	Tukey	0.9306
ALT		15	20		5.8250	1.4248	8	4.09	0.0035	Tukey-Kramer	0.0087
ALT		15	25		5.9150	1.4248	8	4.15	0.0032	Tukey-Kramer	0.0080
ALT		20	25		0.09000	1.4248	8	0.06	0.9512	Tukey-Kramer	0.9978
ESP*ALT	A	15	A	20	3.2733	2.0150	8	1.62	0.1429	Tukey-Kramer	0.6067
ESP*ALT	A	15	A	25	3.7067	2.0150	8	1.84	0.1031	Tukey-Kramer	0.4937
ESP*ALT	A	15	LL	15	-2.8233	3.9202	8	-0.72	0.4919	Tukey-Kramer	0.9738
ESP*ALT	A	15	LL	20	5.5533	3.9202	8	1.42	0.1943	Tukey-Kramer	0.7185
ESP*ALT	A	15	LL	25	5.3000	3.9202	8	1.35	0.2134	Tukey-Kramer	0.7521
ESP*ALT	A	20	A	25	0.4333	2.0150	8	0.22	0.8351	Tukey-Kramer	0.9999
ESP*ALT	A	20	LL	15	-6.0967	3.9202	8	-1.56	0.1585	Tukey-Kramer	0.6442
ESP*ALT	A	20	LL	20	2.2800	3.9202	8	0.58	0.5768	Tukey-Kramer	0.9896
ESP*ALT	A	20	LL	25	2.0267	3.9202	8	0.52	0.6192	Tukey-Kramer	0.9939
ESP*ALT	A	25	LL	15	-6.5300	3.9202	8	-1.67	0.1343	Tukey-Kramer	0.5845
ESP*ALT	A	25	LL	20	1.8467	3.9202	8	0.47	0.6502	Tukey-Kramer	0.9960
ESP*ALT	A	25	LL	25	1.5933	3.9202	8	0.41	0.6951	Tukey-Kramer	0.9980
ESP*ALT	LL	15	LL	20	8.3767	2.0150	8	4.16	0.0032	Tukey-Kramer	0.0259
ESP*ALT	LL	15	LL	25	8.1233	2.0150	8	4.03	0.0038	Tukey-Kramer	0.0305
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-0.2533	2.0150	8	-0.13	0.9031	Tukey-Kramer	1.0000

## B3

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	0.05	0.8453
ALT	2	8	4.65	0.0458
ESP*ALT	2	8	0.15	0.8640

Differences of Least Squares Means

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Standard Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			-0.8533	3.8533	2	-0.22	0.8453	Tukey-Kramer	0.8453
ALT	15	20			9.2217	4.7193	8	1.95	0.0864	Tukey-Kramer	0.1859
ALT	15	25			14.1733	4.7193	8	3.00	0.0170	Tukey-Kramer	0.0404
ALT	20	25			4.9517	4.7193	8	1.05	0.3247	Tukey-Kramer	0.5690
ESP*ALT	A	15	A	20	9.0133	6.6740	8	1.35	0.2138	Tukey-Kramer	0.7529
ESP*ALT	A	15	A	25	11.8467	6.6740	8	1.78	0.1138	Tukey-Kramer	0.5268
ESP*ALT	A	15	LL	15	-2.5433	6.6740	8	-0.38	0.7131	Tukey-Kramer	0.9985
ESP*ALT	A	15	LL	20	6.8867	6.6740	8	1.03	0.3323	Tukey-Kramer	0.8945
ESP*ALT	A	15	LL	25	13.9567	6.6740	8	2.09	0.0699	Tukey-Kramer	0.3757
ESP*ALT	A	20	A	25	2.8333	6.6740	8	0.42	0.6824	Tukey-Kramer	0.9975
ESP*ALT	A	20	LL	15	-11.5567	6.6740	8	-1.73	0.1216	Tukey-Kramer	0.5495
ESP*ALT	A	20	LL	20	-2.1267	6.6740	8	-0.32	0.7582	Tukey-Kramer	0.9994
ESP*ALT	A	20	LL	25	4.9433	6.6740	8	0.74	0.4801	Tukey-Kramer	0.9705
ESP*ALT	A	25	LL	15	-14.3900	6.6740	8	-2.16	0.0632	Tukey-Kramer	0.3485
ESP*ALT	A	25	LL	20	-4.9600	6.6740	8	-0.74	0.4786	Tukey-Kramer	0.9701
ESP*ALT	A	25	LL	25	2.1100	6.6740	8	0.32	0.7600	Tukey-Kramer	0.9994
ESP*ALT	LL	15	LL	20	9.4300	6.6740	8	1.41	0.1954	Tukey-Kramer	0.7205
ESP*ALT	LL	15	LL	25	16.5000	6.6740	8	2.47	0.0386	Tukey-Kramer	0.2372
ESP*ALT	LL	20	LL	25	7.0700	6.6740	8	1.06	0.3204	Tukey-Kramer	0.8845

**C**

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
ESP	1	2	0.00	0.9750
ALT	2	8	5.43	0.0324
ESP*ALT	2	8	0.54	0.6033

Differences of Least Squares Means

Standard

Effect	ESP	ALT	_ESP	_ALT	Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t	Adjustment	Adj P
ESP	A	LL			0.2267	6.4180	2	0.04	0.9750	Tukey	0.9750
ALT	15	20	-11.9733	5.3412	8	-2.24	0.0553	Tukey-Kramer	0.1233		
ALT	15	25	-17.1600	5.3412	8	-3.21	0.0124	Tukey-Kramer	0.0297		
ALT	20	25	-5.1867	5.3412	8	-0.97	0.3600	Tukey-Kramer	0.6140		
ESP*ALT	A	15	A	20	-8.4400	7.5535	8	-1.12	0.2963	Tukey-Kramer	0.8616
ESP*ALT	A	15	A	25	-11.6933	7.5535	8	-1.55	0.1602	Tukey-Kramer	0.6481
ESP*ALT	A	15	LL	15	6.2267	8.9010	8	0.70	0.5040	Tukey-Kramer	0.9768
ESP*ALT	A	15	LL	20	-9.2800	8.9010	8	-1.04	0.3276	Tukey-Kramer	0.8907
ESP*ALT	A	15	LL	25	-16.4000	8.9010	8	-1.84	0.1027	Tukey-Kramer	0.4922
ESP*ALT	A	20	A	25	-3.2533	7.5535	8	-0.43	0.6781	Tukey-Kramer	0.9974
ESP*ALT	A	20	LL	15	14.6667	8.9010	8	1.65	0.1380	Tukey-Kramer	0.5942
ESP*ALT	A	20	LL	20	-0.8400	8.9010	8	-0.09	0.9271	Tukey-Kramer	1.0000
ESP*ALT	A	20	LL	25	-7.9600	8.9010	8	-0.89	0.3973	Tukey-Kramer	0.9376
ESP*ALT	A	25	LL	15	17.9200	8.9010	8	2.01	0.0789	Tukey-Kramer	0.4102
ESP*ALT	A	25	LL	20	2.4133	8.9010	8	0.27	0.7932	Tukey-Kramer	0.9997
ESP*ALT	A	25	LL	25	-4.7067	8.9010	8	-0.53	0.6113	Tukey-Kramer	0.9932
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-15.5067	7.5535	8	-2.05	0.0742	Tukey-Kramer	0.3924
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-22.6267	7.5535	8	-3.00	0.0172	Tukey-Kramer	0.1201
ESP*ALT	LL	20	LL	25	-7.1200	7.5535	8	-0.94	0.3735	Tukey-Kramer	0.9239

The SAS System 23:18 Saturday, October 20, 2001 179

**ANEXO No. 4.** Información estadística de producción total de gas y metano acumulado.

**GAS 0 a 48 Hs.**

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F	Value	Pr > F
ESP	1	4	0.01	0.9269	
ALT	2	7	0.33	0.7284	
ESP*ALT	2	7	0.27	0.7699	

Differences of Least Squares Means

Standard

Effect	ESP >	ALT  t	_ESP Adjustment	_ALT Adj	Estimate	Error	DF	t Value	Pr
ESP	ACH	LL	-1.5688	16.0552	4	-0.1	0.9269	Tukey-Kramer	0.9269



ALT	15	20	-3.0469	9.896	7	-0.31	0.7671	Tukey-Kramer	0.9495
ALT	15	25	-7.8635	9.896	7	-0.79	0.4529	Tukey-Kramer	0.7179
ALT	20	25	-4.8167	9.1537	7	-0.53	0.615	Tukey-Kramer	0.8613
ESP*ALT	ACH	15	ACH	20		3.9333	12.9453	7	0.3 0.7701
									Tukey-Kramer 0.9995
ESP*ALT	ACH	15	ACH	25		-5.6	12.9453	7	-0.43 0.6783
									Tukey-Kramer 0.9972
ESP*ALT	ACH	15	LL	15		4.5937	20.4882	7	0.22 0.829
									Tukey-Kramer 0.9999
ESP*ALT	ACH	15	LL	20		-5.4333	19.058	7	-0.29 0.7838 Tukey-
									Kramer 0.9996
ESP*ALT	ACH	15	LL	25		-5.5333	19.058	7	-0.29 0.78 Tukey-
									Kramer 0.9996
ESP*ALT	ACH	20	ACH	25		-9.5333	12.9453	7	-0.74 0.4854
									Tukey-Kramer 0.9704
ESP*ALT	ACH	20	LL	15		0.6604	20.4882	7	0.03 0.9752
									Tukey-Kramer 1
ESP*ALT	ACH	20	LL	20		-9.3667	19.058	7	-0.49 0.6381 Tukey-
									Kramer 0.9949
ESP*ALT	ACH	20	LL	25		-9.4667	19.058	7	-0.5 0.6346 Tukey-
									Kramer 0.9947
ESP*ALT	ACH	25	LL	15		10.1937	20.4882	7	0.5
									0.6341 Tukey-Kramer 0.9946
ESP*ALT	ACH	25	LL	20		0.1667	19.058	7	0.01 0.9933 Tukey-
									Kramer 1
ESP*ALT	ACH	25	LL	25		0.06667	19.058	7	0 0.9973
									Tukey-Kramer 1
ESP*ALT	LL	15	LL	20		-10.0271	14.9714	7	-0.67
									0.5245 Tukey-Kramer 0.9801
ESP*ALT	LL	15	LL	25		-10.1271	14.9714	7	-0.68
									0.5205 Tukey-Kramer 0.9792
ESP*ALT	LL	20	LL	25		-0.1	12.9453	7	-0.01 0.9941
									Tukey-Kramer 1

### METANO 0 a 48 Hs

Type	3	Tests	of	Fixed	Effects				
	Num	Den	DF	F	Value	Pr	>	F	
	Effect	DF	DF	F	Value	Pr	>	F	
ESP	1	4	1.58	0.2774					
ALT	2	7	5.96	0.0308					
ESP*ALT	2	7	9.75	0.0095					

Differences of Least Squares Means										
Effect	ESP >	ALT  t	_ESP Adjustment	_ALT Adjustment	Estimate Adj	P	Error	DF	t	Value Pr
ESP	ACH	LL	9.618	7.6558	4	1.26	0.2774	Tukey-Kramer	0.2774	
ALT	15	20	-7.8103	2.297	7	-3.4	0.0114	Tukey-Kramer	0.0271	
ALT	15	25	-5.6269	2.297	7	-2.45	0.0441	Tukey-Kramer	0.0987	
ALT	20	25	2.1833	2.1121	7	1.03	0.3356	Tukey-Kramer	0.5808	
ESP*ALT	ACH	15	ACH	20	1.0333	2.9869	7	0.35	0.7395	Tukey-Kramer 0.999
ESP*ALT	ACH	15	ACH	25	3.5333	2.9869	7	1.18	0.2754	Tukey-Kramer 0.8324
ESP*ALT	ACH	15	LL	15	21.6205	8.2133	7	2.63	0.0338	Tukey-Kramer 0.2057
ESP*ALT	ACH	15	LL	20	4.9667	8.0123	7	0.62	0.555	Tukey-Kramer 0.9857
ESP*ALT	ACH	15	LL	25	6.8333	8.0123	7	0.85	0.422	Tukey-Kramer 0.9468
ESP*ALT	ACH	20	ACH	25	2.5	2.9869	7	0.84	0.4302	Tukey-Kramer 0.9506
ESP*ALT	ACH	20	LL	15	20.5872	8.2133	7	2.51	0.0406	Tukey-Kramer 0.2391
ESP*ALT	ACH	20	LL	20	3.9333	8.0123	7	0.49	0.6385	Tukey-Kramer 0.995
ESP*ALT	ACH	20	LL	25	5.8	8.0123	7	0.72	0.4926	Tukey-Kramer 0.9724
ESP*ALT	ACH	25	LL	15	18.0872	8.2133	7	2.2	0.0635	Tukey-Kramer 0.3403
ESP*ALT	ACH	25	LL	20	1.4333	8.0123	7	0.18	0.8631	Tukey-Kramer 1
ESP*ALT	ACH	25	LL	25	3.3	8.0123	7	0.41	0.6928	Tukey-Kramer 0.9978
ESP*ALT	LL	15	LL	20	-16.6539	3.4906	7	-4.77	0.002	Tukey-Kramer 0.0161
ESP*ALT	LL	15	LL	25	-14.7872	3.4906	7	-4.24	0.0039	Tukey-Kramer 0.0295
ESP*ALT	LL	20	LL	25	1.8667	2.9869	7	0.62	0.5518	Tukey-Kramer 0.9852

**GAS 0 a 8; 8 a 24 y 24 a 48 Hs.**

Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
PAST	1	2	0.14	0.7466
ALT	2	32	0.23	0.7987
PAST*ALT	2	32	0.26	0.7700
HOR	2	32	822.98	<.0001
PAST*HOR	2	32	2.49	0.0990
ALT*HOR	4	32	1.41	0.2544
PAST*ALT*HOR	4	32	0.56	0.6934

Differences of Least Squares Means

Effect	PAST	ALT	HOR	_PAST	_ALT	_HOR	Adjustment	Adj P
PAST	ACH		LL				Tukey-Kramer	0.7466
ALT	15		20				Tukey-Kramer	0.9880
HOR	8		16				Tukey-Kramer	<.0001
HOR		8		24			Tukey-Kramer	<.0001
HOR		16		24			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	8	ACH	16			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	8	ACH	24			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	8	LL	8			Tukey-Kramer	0.9561
PAST*HOR	ACH	8	LL	16			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	8	LL	24			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	16	ACH	24			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	16	LL	8			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	16	LL	16			Tukey-Kramer	0.6683
PAST*HOR	ACH	16	LL	24			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	24	LL	8			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	24	LL	16			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	24	LL	24			Tukey-Kramer	0.9999
PAST*HOR	LL	8	LL	16			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	LL	8	LL	24			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	LL	16	LL	24			Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	8	Tukey-Kramer	0.9914
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.9981
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	1.0000

PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	8	Tukey-Kramer	0.9539
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.9999
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	16	Tukey-Kramer	1.0000

PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.9954
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.0004
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.9998
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.9962
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	ACH	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	ACH	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.5111
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	8	Tukey-Kramer	0.9999
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.9997
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	ACH	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.9991
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.0002
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.9993
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001

PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	20	8	Tukey-Kramer	0.9496
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.9717
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	25	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	25	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	25	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	<.0001

### METANO 0 a 8; 8 a 24 y 24 a 48 Hs.

#### Type 3 Tests of Fixed Effects

Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
PAST	1	2	3.16	0.2176
ALT	2	31	0.82	0.4481
PAST*ALT	2	31	2.23	0.1250

HOR	2	31	113.44	<.0001
PAST*HOR	2	31	2.37	0.1100
ALT*HOR	4	31	0.99	0.4278
PAST*ALT*HOR	4	31	1.63	0.1911

Differences of Least Squares Means

Effect				Standard		Estimate	Error	DF	t Value	Pr >  t
	PAST	ALT	HOR	_PAST	_ALT					
PAST	ACH		LL			2.7494	1.5473	2	1.78	0.2176
ALT	15		20			-1.5296	1.2424	31	-1.23	0.2275
ALT	15		25			-1.1685	1.2424	31	-0.94	0.3542
ALT	20		25			0.3611	1.2300	31	0.29	0.7710
PAST*ALT	ACH	15	ACH	20		0.7467	1.7395	31	0.43	0.6707
PAST*ALT	ACH	15	ACH	25		1.1100	1.7395	31	0.64	0.5281
PAST*ALT	ACH	15	LL	15		5.7858	2.1262	31	2.72	0.0106
PAST*ALT	ACH	15	LL	20		1.9800	2.0971	31	0.94	0.3524
PAST*ALT	ACH	15	LL	25		2.3389	2.0971	31	1.12	0.2733
PAST*ALT	ACH	20	ACH	25		0.3633	1.7395	31	0.21	0.8359
PAST*ALT	ACH	20	LL	15		5.0392	2.1262	31	2.37	0.0242
PAST*ALT	ACH	20	LL	20		1.2333	2.0971	31	0.59	0.5607
PAST*ALT	ACH	20	LL	25		1.5922	2.0971	31	0.76	0.4534
PAST*ALT	ACH	25	LL	15		4.6758	2.1262	31	2.20	0.0355
PAST*ALT	ACH	25	LL	20		0.8700	2.0971	31	0.41	0.6811
PAST*ALT	ACH	25	LL	25		1.2289	2.0971	31	0.59	0.5621
PAST*ALT	LL	15	LL	20		-3.8058	1.7745	31	-2.14	0.0399
PAST*ALT	LL	15	LL	25		-3.4469	1.7745	31	-1.94	0.0612
PAST*ALT	LL	20	LL	25		0.3589	1.7395	31	0.21	0.8379
HOR		8		16		-8.3807	0.7163	31	-11.70	<.0001
HOR		8		24		0.1426	0.8540	31	0.17	0.8684
HOR		16		24		8.5233	0.6946	31	12.27	<.0001
PAST*HOR	ACH		ACH	16		-7.4356	0.9823	31	-7.57	<.0001
PAST*HOR	ACH		ACH	24		2.0022	1.1820	31	1.69	0.1003
PAST*HOR	ACH		LL	8		4.6192	1.8007	31	2.57	0.0154
PAST*HOR	ACH		LL	16		-4.7067	1.7663	31	-2.66	0.0121
PAST*HOR	ACH		LL	24		2.9022	1.7663	31	1.64	0.1105
PAST*HOR	ACH	16	ACH	24		9.4378	0.9823	31	9.61	<.0001
PAST*HOR	ACH	16	LL	8		12.0547	1.8007	31	6.69	<.0001
PAST*HOR	ACH	16	LL	16		2.7289	1.7663	31	1.54	0.1325
PAST*HOR	ACH	16	LL	24		10.3378	1.7663	31	5.85	<.0001
PAST*HOR	ACH	24	LL	8		2.6169	1.8007	31	1.45	0.1562
PAST*HOR	ACH	24	LL	16		-6.7089	1.7663	31	-3.80	0.0006
PAST*HOR	ACH	24	LL	24		0.9000	1.7663	31	0.51	0.6140
PAST*HOR	LL	8	LL	16		-9.3258	1.0429	31	-8.94	<.0001
PAST*HOR	LL	8	LL	24		-1.7169	1.2328	31	-1.39	0.1736
PAST*HOR	LL	16	LL	24		7.6089	0.9823	31	7.75	<.0001
ALT*HOR		15		15	16	-8.9587	1.3128	31	-6.82	<.0001
ALT*HOR		15		15	24	-1.8754	1.5401	31	-1.22	0.2325

ALT*HOR	15	8	20	8	-3.3271	1.7024	31	-1.95	0.0597		
ALT*HOR	15	8	20	16	-10.8687	1.7024	31	-6.38	<.0001		
ALT*HOR	15	8	20	24	-1.2271	1.7024	31	-0.72	0.4764		
ALT*HOR	15	8	25	8	-1.9671	1.7024	31	-1.16	0.2567		
ALT*HOR	15	8	25	16	-10.6087	1.7024	31	-6.23	<.0001		
ALT*HOR	15	8	25	24	-1.7637	1.7024	31	-1.04	0.3082		
ALT*HOR	15	16	15	24	7.0833	1.2030	31	5.89	<.0001		
ALT*HOR	15	16	20	8	5.6317	1.6192	31	3.48	0.0015		
ALT*HOR	15	16	20	16	-1.9100	1.6192	31	-1.18	0.2471		
ALT*HOR	15	16	20	24	7.7317	1.6192	31	4.77	<.0001		
ALT*HOR	15	16	25	8	6.9917	1.6192	31	4.32	0.0001		
ALT*HOR	15	16	25	16	-1.6500	1.6192	31	-1.02	0.3161		
ALT*HOR	15	16	25	24	7.1950	1.6192	31	4.44	0.0001		
ALT*HOR	15	24	20	8	-1.4517	1.6192	31	-0.90	0.3769		
ALT*HOR	15	24	20	16	-8.9933	1.6192	31	-5.55	<.0001		
ALT*HOR	15	24	20	24	0.6483	1.6192	31	0.40	0.6916		
ALT*HOR	15	24	25	8	-0.09167	1.6192	31	-0.06	0.9552		
ALT*HOR	15	24	25	16	-8.7333	1.6192	31	-5.39	<.0001		
ALT*HOR	15	24	25	24	0.1117	1.6192	31	0.07	0.9455		
ALT*HOR	20	8	20	16	-7.5417	1.2030	31	-6.27	<.0001		
ALT*HOR	20	8	20	24	2.1000	1.4476	31	1.45	0.1569		
ALT*HOR	20	8	25	8	1.3600	1.6192	31	0.84	0.4074		
ALT*HOR	20	8	25	16	-7.2817	1.6192	31	-4.50	<.0001		
ALT*HOR	20	8	25	24	1.5633	1.6192	31	0.97	0.3418		
ALT*HOR	20	16	20	24	9.6417	1.2030	31	8.01	<.0001		
ALT*HOR	20	16	25	8	8.9017	1.6192	31	5.50	<.0001		
ALT*HOR	20	16	25	16	0.2600	1.6192	31	0.16	0.8735		
ALT*HOR	20	16	25	24	9.1050	1.6192	31	5.62	<.0001		
ALT*HOR	20	24	25	8	-0.7400	1.6192	31	-0.46	0.6509		
ALT*HOR	20	24	25	16	-9.3817	1.6192	31	-5.79	<.0001		
ALT*HOR	20	24	25	24	-0.5367	1.6192	31	-0.33	0.7425		
ALT*HOR	25	8	25	16	-8.6417	1.2030	31	-7.18	<.0001		
ALT*HOR	25	8	25	24	0.2033	1.4476	31	0.14	0.8892		
ALT*HOR	25	16	25	24	8.8450	1.2030	31	7.35	<.0001		
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	15	16	-7.7300	1.7013	31	-4.54	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	15	24	2.3433	2.0473	31	1.14	0.2611
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	8	0.9167	2.2899	31	0.40	0.6917
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	16	-6.7167	2.2899	31	-2.93	0.0063
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	24	2.6533	2.2899	31	1.16	0.2554
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	8	0.9867	2.2899	31	0.43	0.6695
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	16	-5.9567	2.2899	31	-2.60	0.0141
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	24	2.9133	2.2899	31	1.27	0.2127
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	8	9.4175	2.7786	31	3.39	0.0019
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	16	-0.7700	2.5721	31	-0.30	0.7667
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	24	3.3233	2.5721	31	1.29	0.2059
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	8	1.8467	2.5721	31	0.72	0.4782
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	16	-5.6033	2.5721	31	-2.18	0.0371
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	24	4.3100	2.5721	31	1.68	0.1039
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	8	4.4967	2.5721	31	1.75	0.0903
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	16	-5.8433	2.5721	31	-2.27	0.0302
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	24	2.9767	2.5721	31	1.16	0.2560



PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	15	24	10.0733	1.7013	31	5.92	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	8	8.6467	2.2899	31	3.78	0.0007
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	16	1.0133	2.2899	31	0.44	0.6612
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	24	10.3833	2.2899	31	4.53	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	8	8.7167	2.2899	31	3.81	0.0006
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	16	1.7733	2.2899	31	0.77	0.4446
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	24	10.6433	2.2899	31	4.65	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	8	17.1475	2.7786	31	6.17	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	16	6.9600	2.5721	31	2.71	0.0110
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	24	11.0533	2.5721	31	4.30	0.0002
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	8	9.5767	2.5721	31	3.72	0.0008
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	16	2.1267	2.5721	31	0.83	0.4147
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	24	12.0400	2.5721	31	4.68	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	8	12.2267	2.5721	31	4.75	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	16	1.8867	2.5721	31	0.73	0.4688
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	24	10.7067	2.5721	31	4.16	0.0002
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	8	-1.4267	2.2899	31	-0.62	0.5378
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	16	-9.0600	2.2899	31	-3.96	0.0004
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	24	0.3100	2.2899	31	0.14	0.8932
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	8	-1.3567	2.2899	31	-0.59	0.5578
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	16	-8.3000	2.2899	31	-3.62	0.0010
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	24	0.5700	2.2899	31	0.25	0.8051
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	8	7.0742	2.7786	31	2.55	0.0161
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	16	-3.1133	2.5721	31	-1.21	0.2353
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	24	0.9800	2.5721	31	0.38	0.7058
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	8	-0.4967	2.5721	31	-0.19	0.8481
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	16	-7.9467	2.5721	31	-3.09	0.0042
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	24	1.9667	2.5721	31	0.76	0.4503
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	8	2.1533	2.5721	31	0.84	0.4089
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	16	-8.1867	2.5721	31	-3.18	0.0033
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	24	0.6333	2.5721	31	0.25	0.8071
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	20	16	-7.6333	1.7013	31	-4.49	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	20	24	1.7367	2.0473	31	0.85	0.4028
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	8	0.07000	2.2899	31	0.03	0.9758
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	16	-6.8733	2.2899	31	-3.00	0.0053
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	24	1.9967	2.2899	31	0.87	0.3899
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	8	8.5008	2.7786	31	3.06	0.0045
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	16	-1.6867	2.5721	31	-0.66	0.5168
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	24	2.4067	2.5721	31	0.94	0.3567
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	8	0.9300	2.5721	31	0.36	0.7201
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	16	-6.5200	2.5721	31	-2.53	0.0165
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	24	3.3933	2.5721	31	1.32	0.1967
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	8	3.5800	2.5721	31	1.39	0.1739
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	16	-6.7600	2.5721	31	-2.63	0.0132
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	24	2.0600	2.5721	31	0.80	0.4293
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	20	24	9.3700	1.7013	31	5.51	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	8	7.7033	2.2899	31	3.36	0.0021
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	16	0.7600	2.2899	31	0.33	0.7422
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	24	9.6300	2.2899	31	4.21	0.0002
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	8	16.1342	2.7786	31	5.81	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	16	5.9467	2.5721	31	2.31	0.0276

PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	24	10.0400	2.5721	31	3.90	0.0005
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	8	8.5633	2.5721	31	3.33	0.0023
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	16	1.1133	2.5721	31	0.43	0.6681
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	24	11.0267	2.5721	31	4.29	0.0002
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	8	11.2133	2.5721	31	4.36	0.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	16	0.8733	2.5721	31	0.34	0.7365
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	24	9.6933	2.5721	31	3.77	0.0007
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	8	-1.6667	2.2899	31	-0.73	0.4722
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	16	-8.6100	2.2899	31	-3.76	0.0007
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	24	0.2600	2.2899	31	0.11	0.9103
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	8	6.7642	2.7786	31	2.43	0.0209
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	16	-3.4233	2.5721	31	-1.33	0.1929
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	24	0.6700	2.5721	31	0.26	0.7962
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	8	-0.8067	2.5721	31	-0.31	0.7559
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	16	-8.2567	2.5721	31	-3.21	0.0031
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	24	1.6567	2.5721	31	0.64	0.5243
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	8	1.8433	2.5721	31	0.72	0.4789
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	16	-8.4967	2.5721	31	-3.30	0.0024
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	24	0.3233	2.5721	31	0.13	0.9008
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	ACH	25	16	-6.9433	1.7013	31	-4.08	0.0003
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	ACH	25	24	1.9267	2.0473	31	0.94	0.3539
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	8	8.4308	2.7786	31	3.03	0.0048
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	16	-1.7567	2.5721	31	-0.68	0.4997
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	24	2.3367	2.5721	31	0.91	0.3706
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	8	0.8600	2.5721	31	0.33	0.7404
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	16	-6.5900	2.5721	31	-2.56	0.0155
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	24	3.3233	2.5721	31	1.29	0.2059
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	8	3.5100	2.5721	31	1.36	0.1822
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	16	-6.8300	2.5721	31	-2.66	0.0124
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	24	1.9900	2.5721	31	0.77	0.4450
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	ACH	25	24	8.8700	1.7013	31	5.21	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	8	15.3742	2.7786	31	5.53	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	16	5.1867	2.5721	31	2.02	0.0525
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	24	9.2800	2.5721	31	3.61	0.0011
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	8	7.8033	2.5721	31	3.03	0.0049
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	16	0.3533	2.5721	31	0.14	0.8916
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	24	10.2667	2.5721	31	3.99	0.0004
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	8	10.4533	2.5721	31	4.06	0.0003
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	16	0.1133	2.5721	31	0.04	0.9651
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	24	8.9333	2.5721	31	3.47	0.0015
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	8	6.5042	2.7786	31	2.34	0.0259
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	16	-3.6833	2.5721	31	-1.43	0.1621
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	24	0.4100	2.5721	31	0.16	0.8744
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	8	-1.0667	2.5721	31	-0.41	0.6812
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	16	-8.5167	2.5721	31	-3.31	0.0024
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	24	1.3967	2.5721	31	0.54	0.5910
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	8	1.5833	2.5721	31	0.62	0.5427
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	16	-8.7567	2.5721	31	-3.40	0.0018
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	24	0.06333	2.5721	31	0.02	0.9805
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	15	16	-10.1875	1.9998	31	-5.09	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	15	24	-6.0942	2.3013	31	-2.65	0.0126

PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	20	8	-7.5708	2.5197	31	-3.00	0.0052
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	20	16	-15.0208	2.5197	31	-5.96	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	20	24	-5.1075	2.5197	31	-2.03	0.0513
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	8	-4.9208	2.5197	31	-1.95	0.0599
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	16	-15.2608	2.5197	31	-6.06	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	24	-6.4408	2.5197	31	-2.56	0.0157
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	15	24	4.0933	1.7013	31	2.41	0.0223
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	8	2.6167	2.2899	31	1.14	0.2619
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	16	-4.8333	2.2899	31	-2.11	0.0430
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	24	5.0800	2.2899	31	2.22	0.0340
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	8	5.2667	2.2899	31	2.30	0.0283
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	16	-5.0733	2.2899	31	-2.22	0.0342
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	24	3.7467	2.2899	31	1.64	0.1119
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	8	-1.4767	2.2899	31	-0.64	0.5238
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	16	-8.9267	2.2899	31	-3.90	0.0005
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	24	0.9867	2.2899	31	0.43	0.6695
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	8	1.1733	2.2899	31	0.51	0.6120
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	16	-9.1667	2.2899	31	-4.00	0.0004
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	24	-0.3467	2.2899	31	-0.15	0.8807
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	20	16	-7.4500	1.7013	31	-4.38	0.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	20	24	2.4633	2.0473	31	1.20	0.2380
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	8	2.6500	2.2899	31	1.16	0.2560
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	16	-7.6900	2.2899	31	-3.36	0.0021
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	24	1.1300	2.2899	31	0.49	0.6252
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	20	24	9.9133	1.7013	31	5.83	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	8	10.1000	2.2899	31	4.41	0.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	16	-0.2400	2.2899	31	-0.10	0.9172
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	24	8.5800	2.2899	31	3.75	0.0007
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	8	0.1867	2.2899	31	0.08	0.9356
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	16	-10.1533	2.2899	31	-4.43	0.0001
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	24	-1.3333	2.2899	31	-0.58	0.5646
PAST*ALT*HOR	LL	25	8	LL	25	16	-10.3400	1.7013	31	-6.08	<.0001
PAST*ALT*HOR	LL	25	8	LL	25	24	-1.5200	2.0473	31	-0.74	0.4634
PAST*ALT*HOR	LL	25	16	LL	25	24	8.8200	1.7013	31	5.18	<.0001
PAST	ACH	LL									Tukey-Kramer 0.2176
	ALT	15		20							Tukey-Kramer 0.4443
	ALT	15		25							Tukey-Kramer 0.6193
	ALT	20		25							Tukey-Kramer 0.9537
PAST*ALT	ACH	15		ACH	25						Tukey-Kramer 0.9871
	PAST*ALT	ACH	15	LL	15						Tukey-Kramer 0.0995
	PAST*ALT	ACH	15	LL	20						Tukey-Kramer 0.9316
	PAST*ALT	ACH	15	LL	25						Tukey-Kramer 0.8713
	PAST*ALT	ACH	20	ACH	25						Tukey-Kramer 0.9999
	PAST*ALT	ACH	20	LL	15						Tukey-Kramer 0.1980
	PAST*ALT	ACH	20	LL	20						Tukey-Kramer 0.9911
	PAST*ALT	ACH	20	LL	25						Tukey-Kramer 0.9723
	PAST*ALT	ACH	25	LL	15						Tukey-Kramer 0.2669
	PAST*ALT	ACH	25	LL	20						Tukey-Kramer 0.9983
	PAST*ALT	ACH	25	LL	25						Tukey-Kramer 0.9913
	PAST*ALT	LL	15	LL	20						Tukey-Kramer 0.2919
	PAST*ALT	LL	15	LL	25						Tukey-Kramer 0.3968

PAST*ALT	LL	20	LL	25	Tukey-Kramer	0.9999
HOR		8		16	Tukey-Kramer	<.0001
HOR		8		24	Tukey-Kramer	0.9847
HOR		16		24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	8	ACH	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	8	ACH	24	Tukey-Kramer	0.5458
PAST*HOR	ACH	8	LL	8	Tukey-Kramer	0.1366
PAST*HOR	ACH	8	LL	16	Tukey-Kramer	0.1118
PAST*HOR	ACH	8	LL	24	Tukey-Kramer	0.5777
PAST*HOR	ACH	16	ACH	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	16	LL	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	16	LL	16	Tukey-Kramer	0.6390
PAST*HOR	ACH	16	LL	24	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	ACH	24	LL	8	Tukey-Kramer	0.6952
PAST*HOR	ACH	24	LL	16	Tukey-Kramer	0.0077
PAST*HOR	ACH	24	LL	24	Tukey-Kramer	0.9954
PAST*HOR	LL	8	LL	16	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*HOR	LL	8	LL	24	Tukey-Kramer	0.7309
PAST*HOR	LL	16	LL	24	Tukey-Kramer	<.0001
ALT*HOR	15	8	15	16	Tukey-Kramer	<.0001
ALT*HOR	15	8	15	24	Tukey-Kramer	0.9463
ALT*HOR	15	8	20	8	Tukey-Kramer	0.5839
ALT*HOR	15	8	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
ALT*HOR	15	8	20	24	Tukey-Kramer	0.9981
ALT*HOR	15	8	25	8	Tukey-Kramer	0.9600
ALT*HOR	15	8	25	16	Tukey-Kramer	<.0001
ALT*HOR	15	8	25	24	Tukey-Kramer	0.9790
ALT*HOR	15	16	15	24	Tukey-Kramer	<.0001
ALT*HOR	15	16	20	8	Tukey-Kramer	0.0353
ALT*HOR	15	16	20	16	Tukey-Kramer	0.9550
ALT*HOR	15	16	20	24	Tukey-Kramer	0.0012
ALT*HOR	15	16	25	8	Tukey-Kramer	0.0041
ALT*HOR	15	16	25	16	Tukey-Kramer	0.9810
ALT*HOR	15	16	25	24	Tukey-Kramer	0.0030
ALT*HOR	15	24	20	8	Tukey-Kramer	0.9916
ALT*HOR	15	24	20	16	Tukey-Kramer	0.0001
ALT*HOR	15	24	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
ALT*HOR	15	24	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
ALT*HOR	15	24	25	16	Tukey-Kramer	0.0002
ALT*HOR	15	24	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
ALT*HOR	20	8	20	16	Tukey-Kramer	<.0001
ALT*HOR	20	8	20	24	Tukey-Kramer	0.8689
ALT*HOR	20	8	25	8	Tukey-Kramer	0.9945
ALT*HOR	20	8	25	16	Tukey-Kramer	0.0026
ALT*HOR	20	8	25	24	Tukey-Kramer	0.9864
ALT*HOR	20	16	20	24	Tukey-Kramer	<.0001
ALT*HOR	20	16	25	8	Tukey-Kramer	0.0002
ALT*HOR	20	16	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
ALT*HOR	20	16	25	24	Tukey-Kramer	0.0001
ALT*HOR	20	24	25	8	Tukey-Kramer	0.9999
ALT*HOR	20	24	25	16	Tukey-Kramer	<.0001

ALT*HOR	20	24	25	24	Tukey-Kramer	1.0000		
ALT*HOR	25	8	25	16	Tukey-Kramer	<.0001		
ALT*HOR	25	8	25	24	Tukey-Kramer	1.0000		
ALT*HOR	25	16	25	24	Tukey-Kramer	<.0001		
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	15	16	Tukey-Kramer	0.0077
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	15	24	Tukey-Kramer	0.9991
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	16	Tukey-Kramer	0.2910
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	20	24	Tukey-Kramer	0.9990
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	16	Tukey-Kramer	0.4810
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	ACH	25	24	Tukey-Kramer	0.9971
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.1224
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.9965
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.7524
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.9576
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.9405
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.6954
PAST*ALT*HOR	ACH	15	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	0.9990
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	15	24	Tukey-Kramer	0.0002
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	8	Tukey-Kramer	0.0521
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	20	24	Tukey-Kramer	0.0079
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	8	Tukey-Kramer	0.0485
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	ACH	25	24	Tukey-Kramer	0.0059
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	8	Tukey-Kramer	<.0001
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.4160
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.0146
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	8	Tukey-Kramer	0.0588
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.0054
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.0044
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	0.0205
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	16	Tukey-Kramer	0.0340
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	16	Tukey-Kramer	0.0736
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	ACH	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.5166
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.9983
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	15	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.2207
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.1851

PAST*ALT*HOR	ACH	15	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	20	16	Tukey-Kramer	0.0090
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	16	Tukey-Kramer	0.2586
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	ACH	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.2332
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.9999
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.5238
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.9956
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.9924
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.4639
PAST*ALT*HOR	ACH	20	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	20	24	Tukey-Kramer	0.0006
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	8	Tukey-Kramer	0.1290
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	ACH	25	24	Tukey-Kramer	0.0184
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.0003
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.6698
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.0386
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	8	Tukey-Kramer	0.1385
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.0150
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.0124
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	0.0530
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	16	Tukey-Kramer	0.0540
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	ACH	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.5898
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.9952
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	15	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.1756
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.1460
PAST*ALT*HOR	ACH	20	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	ACH	25	16	Tukey-Kramer	0.0251
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	ACH	25	24	Tukey-Kramer	0.9999
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.2440
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	15	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.5062
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.9965
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.9938
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.4469
PAST*ALT*HOR	ACH	25	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000

PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	ACH	25	24	Tukey-Kramer	0.0013
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.0005
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.8399
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.0763
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	8	Tukey-Kramer	0.2442
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.0312
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.0261
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	0.1025
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	8	Tukey-Kramer	0.6512
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.9899
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	15	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.1437
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.1186
PAST*ALT*HOR	ACH	25	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	15	16	Tukey-Kramer	0.0018
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.4515
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.0002
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.8347
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.8691
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.0001
PAST*ALT*HOR	LL	15	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	0.5099
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	15	24	Tukey-Kramer	0.6086
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	8	Tukey-Kramer	0.9991
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.7911
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.7285
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.6775
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.7302
PAST*ALT*HOR	LL	15	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	0.9653
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.0391
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	20	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.0303
PAST*ALT*HOR	LL	15	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	20	16	Tukey-Kramer	0.0118
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.9984
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.9990
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.1305
PAST*ALT*HOR	LL	20	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	20	24	Tukey-Kramer	0.0002
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	8	Tukey-Kramer	0.0109
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	16	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	20	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	0.0557
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	8	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.0103
PAST*ALT*HOR	LL	20	24	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000

PAST*ALT*HOR	LL	25	8	LL	25	16	Tukey-Kramer	0.0001
PAST*ALT*HOR	LL	25	8	LL	25	24	Tukey-Kramer	1.0000
PAST*ALT*HOR	LL	25	16	LL	25	24	Tukey-Kramer	0.0014