



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# **Uso del nitrógeno fecal como marcador para estimar el consumo y digestibilidad de ovinos alimentados con pasturas nativas**

Ana Inés Tafernaberry Panissa

Magíster en Ciencias Agrarias  
Opción Ciencias Animales

Abril, 2024

**Uso del nitrógeno fecal como marcador  
para estimar el consumo y digestibilidad  
de ovinos alimentados con pasturas  
nativas**

Ana Inés Tafernaberry Panissa

Magíster en Ciencias Agrarias  
Opción Ciencias Animales

Abril, 2024

Tesis aprobada por el tribunal integrado por DMV. PhD. Analía Pérez Ruchel ,  
Ing. Agr. PhD. Thais Devincenzi y DMV. PhD. Eduardo Azevedo el 30 de abril de  
2024. Autora: Ing. Agr. Ana Inés Tafernaberry Panissa. Director: Ing. Agr. PhD.  
Ignacio De Barbieri. Codirector: Zootecnista PhD. Jean Victor Savian.

### Agradecimientos

Es oportuna la ocasión para expresar nuestro agradecimiento a los equipos de trabajo de la Universidade Federal de Santa Maria, a la Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a la Universidade Federal do Pampa y al Instituto de Producción Animal Veterinaria por facilitarnos los protocolos y brindarnos el espacio para el intercambio de conocimiento, lo que nos permitió el desarrollo de un protocolo para la presente investigación. También, quisiéramos agradecer a Gabriel Ciappesoni, por sus aportes en la discusión del análisis estadístico.

## Tabla de contenido

|                                                                                                                                                   | Página |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Página de Aprobación.....                                                                                                                         | III    |
| Agradecimientos.....                                                                                                                              | IV     |
| Resumen.....                                                                                                                                      | VII    |
| Summary.....                                                                                                                                      | VIII   |
| <b>1. <u>Introducción</u></b> .....                                                                                                               | 1      |
| <b>1.1. Antecedentes</b> .....                                                                                                                    | 3      |
| <b>1.2. Hipótesis</b> .....                                                                                                                       | 16     |
| <b>1.3. Objetivos</b> .....                                                                                                                       | 17     |
| 2.1.1. <u>General</u> .....                                                                                                                       | 17     |
| 2.1.1. <u>Específicos</u> .....                                                                                                                   | 17     |
| <b>2. <u>Using faecal nitrogen as a marker to estimate intake and forage digestibility in sheep fed multi-species native grasslands</u></b> ..... | 18     |
| <b>2.1. Resumen</b> .....                                                                                                                         | 18     |
| <b>2.2. Summary</b> .....                                                                                                                         | 19     |
| <b>2.3. Introduction</b> .....                                                                                                                    | 20     |
| <b>2.4. Materials and methods</b> .....                                                                                                           | 22     |
| 2.4.1. <u>Location, treatments and experimental design</u> .....                                                                                  | 22     |
| 2.4.2. <u>Experimental procedures</u> .....                                                                                                       | 23     |
| 2.4.3. <u>Pasture management and measurements</u> .....                                                                                           | 23     |
| 2.4.4. <u>Animal management and measurements</u> .....                                                                                            | 25     |
| 2.4.1.1. Forage harvesting and sheep feeding .....                                                                                                | 26     |
| 2.4.1.2. Faecal excretion .....                                                                                                                   | 27     |
| 2.4.5. <u>Forage and faeces samples preparation and chemical analysis</u> .....                                                                   | 27     |
| 2.4.6. <u>Calculations and equations validation</u> .....                                                                                         | 28     |
| 2.4.7. <u>Statistical analyses</u> .....                                                                                                          | 28     |
| <b>2.5. Results</b> .....                                                                                                                         | 29     |
| 2.5.1. <u>Sward characteristics</u> .....                                                                                                         | 29     |
| 2.5.2. <u>Faecal chemical composition and excretion</u> .....                                                                                     | 30     |
| 2.5.3. <u>Forage digestibility and intake</u> .....                                                                                               | 32     |
| 2.5.4. <u>Forage digestibility and intake equations</u> .....                                                                                     | 34     |

|                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.5.5. <u>External validation of the prediction equations</u> .....                                                                                          | 36 |
| <b>2.6. Discussion</b> .....                                                                                                                                 | 36 |
| 2.6.1. <u>Forage intake regression model</u> .....                                                                                                           | 36 |
| 2.6.2. <u>Forage digestibility regression model</u> .....                                                                                                    | 38 |
| <b>2.7. Conclusions</b> .....                                                                                                                                | 39 |
| <b>2.8. Acknowledgments</b> .....                                                                                                                            | 40 |
| <b>2.9. References</b> .....                                                                                                                                 | 40 |
| <b>3. <u>Discusión general y conclusiones globales</u></b> .....                                                                                             | 46 |
| <b>4. <u>Bibliografía</u></b> .....                                                                                                                          | 48 |
| <b>5. <u>Anexos</u></b> .....                                                                                                                                | 56 |
| 5.1. <b>Resumen publicado en los anales de la Asociación Uruguaya de Producción animal (AUPA).</b> .....                                                     | 56 |
| 5.2. <b>Póster presentado en la AUPA</b> .....                                                                                                               | 58 |
| 5.3. <b>Modelos considerados para estimación de consumo de forraje</b> .....                                                                                 | 59 |
| 5.3.1. <u>Modelos lineales que consideran excreción total de nitrógeno y concentración de FDN o FDA para estimar consumo de materia orgánica</u> .....       | 59 |
| 5.3.2. <u>Modelos lineales que consideran sólo la concentración de nitrógeno, FDN o FDA para estimar consumo de materia orgánica</u> .....                   | 60 |
| 5.4. <b>Modelos considerados para estimación de digestibilidad de la materia orgánica de forraje basados en la concentración de nitrógeno en heces</b> ..... | 60 |
| 5.5. <b>Detalle de la validación de las ecuaciones generadas para estimación de consumo y digestibilidad de la materia orgánica</b> .....                    | 62 |
| 5.5.1. <u>Consumo de materia orgánica</u> .....                                                                                                              | 62 |
| 5.5.2. <u>Digestibilidad de materia orgánica</u> .....                                                                                                       | 63 |
| 5.6. <b>Imágenes del lugar experimental</b> .....                                                                                                            | 64 |

## Resumen

En varias regiones del mundo, las pasturas nativas son el principal alimento para los rumiantes debido a su extensión y distribución geográfica. Los pastizales de la región del Río de la Plata se caracterizan por ser uno de los más grandes del mundo; por tanto, la producción ganadera de la región se desarrolla en su extensa mayoría sobre condiciones de pastoreo, siendo un desafío la estimación del consumo de forraje y, por consiguiente, el diseño de estrategias de manejo de dichos ecosistemas pastoriles. El objetivo del presente estudio fue generar una ecuación, basada en la excreción de nitrógeno fecal (eNF), para estimar el consumo de materia orgánica (CMO) y una ecuación, basada en el contenido de nitrógeno en las heces (cNF), para estimar la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) de ovinos alimentados exclusivamente con forraje de campo natural. En un diseño completamente al azar, 16 borregos Corriedale con ~44 kg de peso vivo (PV) fueron alojados en jaulas metabólicas y distribuidos en cuatro tratamientos, dados por cuatro niveles de oferta de forraje (15, 20, 25 g de materia seca/kg PV y *ad libitum*). Durante la primavera de 2019 y el verano de 2020, se realizaron cuatro períodos de medición, con cinco días de acostumbramiento a la jaula metabólica, diez días de acostumbramiento al tratamiento y cinco días de mediciones. El forraje fue cortado una vez al día, ofreciéndose fresco en dos momentos del día (8 y 17 h). Las mediciones realizadas fueron: consumo de forraje (ofrecido-rechazo), excreción total de heces, composición química de heces y alimento. Se generó un modelo de regresión lineal ( $p < 0,001$ ;  $R^2 = 0,93$ ) para estimar el CMO en ovinos alimentados con pastos nativos basado en la eNF [CMO (g MO/animal/día) =  $90,1 + 105,5 \times \text{FNe}$ ]. Además, se generó un modelo de regresión exponencial ( $p < 0,001$ ;  $R^2 = 0,56$ ) para estimar la DMO en ovinos basado en el cNF [DMO (kg/kg MO) =  $0,17506e^{0,0653 \times \text{FNc}}$ ]. En conclusión, nuestros hallazgos resaltan que la eNF y el cNF son precisos para estimar el CMO y la DMO, respectivamente, en ovinos alimentados con pastos nativos de la región del Río de la Plata.

**Palabras clave:** consumo de alimento, contenido de N en heces, excreción de N en heces, campo natural

## Summary

### **Using faecal nitrogen as a marker to estimate intake and forage digestibility in sheep fed multi-species native grasslands**

In several regions of the world, native grasslands are the main source of food for ruminants due to their extension and geographical distribution. The grasslands of the Río de la Plata region are characterized by being one of the largest in the world; therefore, the region's livestock production is carried out mostly under grazing conditions, making it a challenge to estimate the consumption of forage and, consequently, the management strategies of these pastoral ecosystems. The present study aimed to develop equations based on fecal nitrogen excretion (FNe) to estimate organic matter intake (OMI) and fecal nitrogen content (FNc) to estimate organic matter digestibility (OMD) in sheep exclusively fed with native grassland. In a completely randomized design, 16 Corriedale sheep with an average live weight (LW) of 44.4 kg were housed in metabolic cages and assigned to four treatments, each corresponding to four levels of forage allowance (15, 20, 25 g dry matter/kg LW and *ad libitum*). Four measurement periods were conducted during the spring of 2019 and the summer of 2020, involving five days of acclimatization to the metabolic cages, ten days of acclimatization to the treatments and five days of measurements. Forage was harvested once daily and offered fresh at two separate times (8 am and 5 pm). Measurements included forage intake (difference between offered and refusal), total fecal excretion and the chemical composition of both feces and forage. A precise linear regression model ( $p < 0.001$ ;  $R^2 = 0.93$ ) was developed to estimate OMI in sheep fed with native grassland based on FNe [OMI (g OM/animal/day) =  $90.1 + 105.5 \times \text{FNe}$ ]. Additionally, a precise exponential regression model ( $p < 0.001$ ;  $R^2 = 0.56$ ) was generated to estimate OMD in sheep based on FNc [OMD (kg/kg OM) =  $0.17506e^{0.0653 \times \text{FNc}}$ ]. In conclusion, our findings highlight the precision of FNe and FNc in estimating OMI and OMD, respectively, in sheep fed with native grassland from the Río de la Plata region.

**Keywords:** feed intake, fecal N content, fecal N excretion, natural grassland

## **1. Introducción**

Los pastizales naturales se encuentran distribuidos en la gran mayoría de los continentes, ocupando aproximadamente el 40 % de la superficie global (WRI, 2000). Por su parte, los pastizales naturales de la región del Río de la Plata están ubicados en todo el Uruguay, el centro-este de Argentina y parte del sur de Brasil y se encuentran dentro de las ecorregiones naturales más grandes del mundo (Soriano, 1992). Estas pasturas están compuestas por una gran diversidad de especies de plantas (Andrade et al., 2018), las cuales están adaptadas a diferentes condiciones climáticas y de suelo, lo cual genera una estructura heterogénea en el tiempo y el espacio, debido a la coexistencia de especies de diversos ciclos de producción y hábitos de crecimiento. En Uruguay, las pasturas nativas abarcan aproximadamente 11,7 millones de hectáreas, lo cual representa el 81,7 % del área del país (DIEA, 2020). Dichas pasturas son la principal base forrajera de la producción ganadera del país, la cual se desarrolla en su extensa mayoría sobre condiciones de pastoreo (Berretta, 2009; Díaz et al., 2008).

De forma similar al Uruguay, las pasturas nativas son el principal alimento de los rumiantes, ovinos y bovinos en varias regiones del mundo. Una buena gestión de estos pastizales puede conducir a una mejor producción vegetal, composición química y estructura que se presenta al animal. De este modo, la gestión de los pastizales repercutiría en el consumo, digestibilidad, utilización de nutrientes y producción de dichos animales. En estos sistemas de pastoreo, es un desafío medir directamente el consumo de materia seca y de nutrientes de los animales, en parte, pues la dieta consumida difiere en términos de especies de plantas, partes de plantas y contenido de nutrientes del promedio de la biomasa vegetal disponible. Por tal motivo, es relevante poder estimar el consumo y la digestibilidad del forraje por los animales en pastoreo, lo que permitiría elaborar estrategias de manejo en los ecosistemas pastoriles, principalmente porque el consumo de forraje por los animales está directamente relacionado con la ganancia de peso (Boval et al., 2015; Salah et al., 2015) y la emisión de gases de efecto invernadero, como el metano proveniente de la fermentación entérica (Zubieta et al., 2021).

La relevancia de determinar el consumo de forraje se debe a que es el principal factor que afecta la producción de animales en pastoreo (Carvalho et al., 2007). El desempeño animal está explicado en más de un 70 % por el consumo individual del alimento y, en menor medida, por la eficiencia con que el animal digiere y metaboliza los nutrientes consumidos (Waldo, 1986). La cantidad, calidad y estructura del forraje a la cual el animal acceda influye directamente en el consumo, el comportamiento y la productividad futura (Hodgson, 1982). En resumen, el consumo está determinado por factores propios de la pastura, del animal, del ambiente y del manejo (Chilibroste, 2002; Hadgu, 2016).

Pese a la relevancia que tiene el determinar el consumo y el comportamiento ingestivo relacionado, no existe un método estándar óptimo para su estimación en los ecosistemas pastoriles, y esto es debido a que no puede ser medido directamente (Penning, 2004). Como consecuencia, se han desarrollado diversas técnicas para la estimación de consumo y digestibilidad, basadas en mediciones en los animales, así como en mediciones en la biomasa vegetal, las cuales varían en costo, precisión, confiabilidad y mano de obra necesaria para ser llevadas adelante (Gordon, 1995). Dichas técnicas para estimar consumo y composición de la dieta han sido ampliamente revisadas por diferentes investigadores (Dove y Mayes, 1996; Langlands, 1987; Mayes y Dove, 2000).

Son varias las técnicas que pueden ser utilizadas en la determinación de consumo y digestibilidad de alimentos forrajeros basadas en la utilización de marcadores externos e internos. Debido a las dificultades que presenta la recolección total de heces excretadas, especialmente en animales en pastoreo, una de las técnicas sugeridas es la estimación a través de la excreción total de nitrógeno fecal, basada en la alta correlación entre la ingesta de materia orgánica y la excreción de nitrógeno fecal reportada por Lancaster (1949). Esto es en función de que la mayoría del nitrógeno fecal es de origen metabólico y está compuesto por microbios no digeridos, secreciones del tracto digestivo y células epiteliales, y que esa secreción es constante por unidad de materia orgánica ingerida (Kozloski et al., 2014); mientras que si hay un aumento en la concentración de nitrógeno fecal a un mismo consumo de materia orgánica, es un resultado de un incremento en la digestibilidad.

Se han propuesto ecuaciones lineales para estimar el consumo y la digestibilidad a partir de la cantidad de nitrógeno excretado en las heces de rumiantes alimentados con diferentes tipos de forrajes (Azevedo et al., 2014; David et al., 2014; Kozloski et al., 2014). A partir de lo reportado por Boval et al. (1996), Peripolli et al. (2011), Azevedo et al. (2014) y David et al. (2014) sobre la utilización del nitrógeno fecal como marcador para estimar consumo y digestibilidad de ovinos y bovinos alimentados con diferentes especies forrajeras (pasturas cultivadas), es posible concluir que el nitrógeno fecal es un buen marcador. Incluso Kozloski et al. (2014) y Azevedo et al. (2024) afirman que es un buen estimador cuando el alimento ofrecido a los animales son pasturas nativas (conjunto de especies).

Si bien hay estudios generados sobre diferentes modelos para la estimación de consumo y digestibilidad sobre pasturas cultivadas y multiespecies, además de con diferentes animales, ovinos y bovinos, aún falta confirmar información sobre nuestras pasturas nativas. Por tal motivo, la hipótesis planteada en este trabajo refiere a que el nitrógeno fecal presenta buena precisión en la estimación de consumo y digestibilidad del forraje por ovinos alimentados con pasturas nativas de la región del Río de la Plata. El objetivo central de esta investigación es generar una ecuación basada en el nitrógeno fecal para estimar el consumo y la digestibilidad del forraje de ovinos alimentados con pasturas nativas en Uruguay.

### **1.1. Antecedentes**

El principal recurso alimenticio para los rumiantes en el mundo es el forraje en sus diversas variedades, presentaciones y ecosistemas, siendo su presentación en fresco la que predomina en su extensa mayoría. Uruguay, el centro-este de Argentina y el sur de Brasil se encuentran ubicados en una región ecológica denominada los Campos Sudamericanos, que se extiende sobre 0,5 M km<sup>2</sup>, entre 27 °S y 35 °S (Jaurena et al., 2021). En dicha región, dominan los pastizales templados y subtropicales conformados por conjuntos de especies, las cuales se relacionan con el suelo, así como con los tipos e intensidad de pastoreo (Berretta et al., 2000). El área de las pasturas nativas de Campos ha ido disminuyendo debido a la conversión a cultivos de cereales,

pastos cultivados y plantaciones forestales (Baeza y Paruelo, 2020; Viglizzo y Frank, 2006). Hoy en día, las pasturas nativas remanentes ocupan el 36 % de su extensión original en Río Grande del Sur-Brasil (Trindade et al., 2018), el 64 % en Uruguay (Cortelezzi y Mondelli, 2014), el 26 % en Entre Ríos y el 72 % en Corrientes, en Argentina (INDEC, 2018). Los ecosistemas de Campos y sus pasturas nativas se utilizan principalmente para la producción ganadera extensiva, además de brindar una variedad de servicios ecosistémicos como ser: el sustento de la biodiversidad vegetal y animal, el control de la erosión del suelo y el almacenamiento de carbono orgánico del suelo, los nutrientes regulación del ciclo y suministro de agua, la regulación del clima (Viglizzo y Frank, 2006; Weyland et al., 2017). Estos pastizales son únicos, debido a su alta diversidad, ricos en especies, pero están siendo desafiados por cambios en el uso de la tierra (Overbeck et al., 2007); por tanto, se necesitan estrategias para mejorar la producción ganadera y conservar el ecosistema (Carvalho y Batello, 2009).

Los rumiantes se alimentan en su gran mayoría de estas pasturas nativas en varias regiones, pudiendo ser criados en condiciones extensivas o intensivas, siendo su alimentación generalmente *ad libitum*, aunque en algunas ocasiones (disponibilidad de forraje limitante, condiciones climáticas adversas, entre otros) puede ser limitada, lo que implica insuficiente alimento ingerido por los animales para satisfacer sus necesidades nutricionales para crecimiento ontogénico, mantenimiento y producción. El consumo y la digestibilidad son dos de los principales parámetros que definen la calidad de un alimento, siendo el consumo el factor con mayor importancia influyendo directamente en el desempeño animal (Poppi et al., 1999). El consumo voluntario se denomina como la cantidad de alimento ingerido por un animal durante un período de tiempo determinado con acceso libre al alimento (Mertens, 1994) y está constituido por tres dimensiones, animal, forraje y medioambiente. Además, es una variable multifactorial, que involucra factores genéticos, neuroendócrinos y hormonales, de alimentación y ambientales (Pulina et al., 2013); mientras que la digestibilidad representa la proporción de nutrientes que incorpora efectivamente el animal, representando el porcentaje de un alimento consumido que no es eliminado en heces y, por tanto, queda disponible dentro del animal para cumplir con las funciones de mantenimiento, producción y reproducción. Algunos factores que afectan la

digestibilidad de los forrajes son: su estado de madurez, el nivel de procesamiento que tienen y su composición química. En definitiva, el consumo está determinado por factores propios de la pastura, el animal, el ambiente y el manejo (Chilibroste, 2002; Hadgu, 2016).

Los factores relativos al alimento son: características físicas y químicas, estructura de la pastura (altura, masa), balance de nutrientes, factores antinutricionales y efectos asociativos del alimento (como, por ejemplo, la suplementación). Los factores asociados al animal son: estado fisiológico y edad, genotipo y tamaño. Finalmente, los factores vinculados al ambiente pueden ser la temperatura, la disponibilidad de agua, la sanidad: prevalencia de enfermedades y entorno, como ser si el animal está en pastoreo o está en corral o a galpón. Se han desarrollado diferentes teorías para explicar la regulación del consumo y sobre todo para predecirlo. Sin ser el objetivo desarrollarlas, se las menciona brevemente a continuación (Forbes, 2007).

- Limitación de consumo por volumen: se basa en el control del consumo dado por la capacidad de llenado del tracto digestivo y la tasa de pasaje del alimento, sin incluir aspectos del metabolismo. Por ejemplo, dietas altas en fibras y con baja energía disponible ocasionan una distensión digestiva, lo cual limita el consumo voluntario. Este último se ve afectado por una disminución en la capacidad retículo-rumen y por la velocidad de desaparición de la ingesta en este órgano. Las propiedades físicas y químicas del forraje juegan un rol, pues la velocidad de desaparición depende de la velocidad de paso y de absorción, y estas dependen, a su vez, de las propiedades de cada forraje (Clark y Armentano, 1997). La eficiencia de utilización del alimento se ve significativamente afectada por el volumen del rumen, la tasa de fermentación, el recambio ruminal y el tiempo de digestión.

- Modelos de restricciones e hipótesis de las dos fases: actúan dos mecanismos principales, físicos (capacidad del rumen) y metabólico-químicos (Orcasberro y Fernandez, 1988). El consumo voluntario es un factor determinante en la ingestión total de energía, por lo que el animal posee mecanismos que regulan el consumo en función del balance energético (por ejemplo, el volumen del alimento) (Burns et al., 1991). Cuando la dieta tiene una alta concentración de energía, vitaminas y minerales disponibles, el animal consume hasta satisfacer su apetito, siendo el potencial del

animal el límite al consumo (Galli et al., 1996). La digestibilidad se relaciona íntimamente con el consumo porque controla la tasa de pasaje. Cuando el animal tiene acceso a una oferta de pastura ilimitada, el consumo aumenta al incrementarse el valor nutritivo del forraje seleccionado; es decir, con mayor digestibilidad se observa un mayor consumo, hasta que los requerimientos de energía son satisfechos. (Baumgardt, 1972). Incluso pasado este punto, mayores digestibilidades se pueden asociar con menor consumo en materia seca. Esta teoría suma al control físico otras restricciones, alta temperatura ambiente, calor del animal y necesidad de homeotermia.

- Teoría de restricciones múltiples: en esta teoría se utilizan 6 límites potenciales para estudiar el consumo potencial. Ellos son: tasa de ingesta, excreción fecal, tasa de pasaje ruminal, requerimientos del animal, disipación de calor y metabolismo (flujo de ATP).

- Algunas otras teorías posteriores: incluyen más aspectos como las características sensoriales del alimento y otros vinculados al llenado físico del tracto digestivo. Los animales en pastoreo desarrollan la capacidad de seleccionar qué cosechar. Dicha capacidad se adquiere a partir de los sentidos del gusto y del olfato y la experiencia previa de consumo, lo cual es aprendido por el animal junto a su madre. Por ejemplo, prefieren hojas frente al tallo, el material verde sobre el material seco, las leguminosas sobre gramíneas (Ganzábal, 1997). De hecho, los animales en pastoreo también pueden consumir una dieta de mayor digestibilidad que la ofrecida, debido a esa capacidad de selección que poseen (Poppi et al., 1987). Durante las fases de crecimiento y ciclos reproductivos, el animal va cambiando su consumo para ajustarlo a sus requerimientos (Forbes, 1986). Es lógico pensar que el tamaño y el peso del animal son factores que afectan directamente el consumo y la selectividad (Romney y Gill, 2000); animales más grandes y pesados tienen un mayor consumo. Así como la fase de desarrollo que se encuentre el animal, sus requerimientos varían según si esta en la fase de crecimiento o reproducción o lactación, por tanto su consumo también.

- Maximizar eficiencia o modelo costo/beneficio: se basa en que los animales comen para maximizar la relación entre energía neta disponible y cantidad de oxígeno consumido.

• Mínimo malestar (*discomfort* en inglés) total: una aproximación multifactorial que tiene en cuenta dos enfoques para explicar el consumo y la selectividad; por un lado, la visión de la fisiología del animal para explicar consumo y, por otro, una visión de evolución que entiende que el animal hará lo que tenga que hacer para sobrevivir y reproducirse.

A raíz de esta multifactoriedad que afectan el consumo resulta difícil medir directamente el consumo y la digestibilidad en pastoreo, por lo que el uso de marcadores es una herramienta atractiva, pues minimiza la interferencia con los patrones de comportamiento animal y simplifica los procedimientos. Existen diversas técnicas desarrolladas y utilizadas para estimar consumo y digestibilidad del forraje, las cuales varían desde mediciones en la pastura hasta el uso de marcadores (internos y externos), existiendo métodos directos e indirectos que estiman el consumo individual de los animales (Dove et al., 1990; Penning y Johnson, 1983). Dentro de los métodos indirectos, existen diversas técnicas, tales como técnicas *in vitro* (Tilley y Terry, 1963), fístulas esofágicas (Torell, 1954), y métodos enzimáticos (Aufere y Demarquille, 1989; Jones y Hayward, 1975). Los marcadores, por su parte, son compuestos de referencia utilizados para monitorear aspectos químicos y físicos de la digestión, estimar el flujo de la digesta, digestibilidad parcial o total y la producción fecal en diversas especies animales. Además, deben ser inertes y no tóxicos, no ser absorbidos ni metabolizados, no tener funciones fisiológicas, mezclarse bien con el alimento y permanecer uniformemente distribuidos en la digesta, no interferir con las secreciones intestinales, absorción o motilidad, ni con la microflora del tracto digestivo, poseer un método específico de determinación analítica y, en la medida de lo posible, ser económicos. Se clasifican en internos, que son constituyentes naturales de los alimentos o del animal (sílice, lignina, nitrógeno fecal, cromógenos, fibra detergente ácida y neutro indigestibles, cenizas insolubles en ácido, n-alcanos); y externos, que son compuestos inertes (óxido cromo, titanio, iterbio, rutenio fenantrolina, cromo y cobalto) (Rodríguez et al., 2007). Para ser validado, un marcador debe ser comparado con un patrón; en el caso de la digestibilidad aparente, ese patrón es la recolección total de heces. El desarrollo de las técnicas que usan marcadores (internos y externos) es debido a las dificultades que presenta la recolección total de

heces excretadas, sobre todo en animales en pastoreo. De los marcadores conocidos hasta el momento y mencionados anteriormente, ninguno atiende todos estos criterios; por otro lado, el grado tolerable de error puede diferir de acuerdo con la variable que se esté midiendo (Owens y Hanson, 1992). Todas las técnicas y marcadores anteriormente mencionados presentan limitaciones.

Las técnicas de estimación de consumo y digestibilidad de forrajes en algún punto presentan limitantes, y es debido a esto que unas presentan mayor precisión y ventajas frente a otras. Además, como se mencionó, tanto el consumo como la digestibilidad dependen de múltiples factores que los están determinando y al momento de querer estimar estos parámetros están incidiendo y pueden causar menor o mayor grado de error, dependiendo de las condiciones presentes. En el caso de las técnicas *in vitro* en el laboratorio, una de las limitantes es la obtención de una muestra representativa de forraje consumido, y, aunque esto puede ser solucionado en parte por el uso de marcadores, estos deben ser realmente indigestibles para poder ser recuperados con suficiente exactitud. En el caso de los marcadores externos, la mayor limitación es que no se comportan como las partículas del alimento y cuando se adhieren a la porción fibrosa pueden alterar algunas características químicas y físicas. Por su parte, los marcadores internos presentan como principales restricciones la recuperación variable o incompleta en las heces, la variación en la tasa de pasaje por el rumen y los muestreos poco representativos junto con el delineamiento estadístico (Fahey y Jung, 1983; Titgemeyer, 2001). Uno de los obstáculos que se presenta en la mayoría de los métodos, es su uso restringido cuando los animales pueden seleccionar diferentes especies forrajeras en la pastura ofrecida o, también cuando los animales son suplementados, debido a la interacción entre alimentos en términos de digestibilidad (Peyraud, 1996). En definitiva, esto implica el desarrollo continuo de ecuaciones de regresión para todo el rango de opciones posibles.

Se han realizado numerosos esfuerzos en generar y testear metodologías directas e indirectas para estimar de forma precisa el consumo y digestibilidad de forraje (Andriarimalala et al., 2021; Dove y Mayes, 2005; Garrett et al., 2020; Kozloski et al., 2018; Lancaster, 1949; Mayes y Dove, 2000). El efecto del nivel de consumo sobre aspectos nutricionales y productivos puede evaluarse mediante pruebas con animales

en pastoreo, así como con animales en condiciones de corral con jaulas metabólicas. Se han desarrollado métodos de referencia en lo que respecta a nutrición de animales estabulados (Cochran y Galyean, 1994). Por el contrario, la nutrición de los animales en pastoreo presenta mayores desafíos debido a la dificultad de estimar con precisión el consumo de forraje por los animales (Carvalho et al., 2007; Coleman y Moore, 2003), principalmente en pasturas heterogéneas como lo son las pasturas nativas de la región del Río de la Plata. Dentro de los métodos existentes, los basados en la composición química de las heces resultan atractivos puesto que permiten predecir el consumo y la digestibilidad de la dieta de los forrajes para animales individuales (Corbett y Freer, 2003). La técnica de nitrógeno fecal parece ser una opción adecuada; requiere de un desarrollo continuo de curvas de regresión que relacionen el compuesto mencionado con la digestibilidad de la dieta consumida por el animal; además se debe considerar la variación individual de digestibilidad entre animales, así como los efectos del cambio de consumo de forraje en su digestibilidad.

Si ponemos foco a los marcadores internos, el contenido de nitrógeno en heces es utilizado con frecuencia debido a su aplicabilidad y metodología de análisis (Savian et al., 2018), requiriendo de pruebas en condiciones controladas, de manera de lograr establecer relaciones entre consumo, digestibilidad y el marcador y de este modo generar ecuaciones de estimaciones (Wang et al., 2009). El primer investigador en establecer la relación entre la digestibilidad de la materia orgánica y el contenido de nitrógeno en heces fue Lancaster (1949). El método presenta la necesidad de cuantificar la producción total de heces, pudiéndose hacer mediante un marcador externo (ej., dióxido de titanio; Glindemann et al., 2009) o por colecta total con bolsas de recolección (Penning, 2004). Esta segunda técnica en particular es principalmente apropiada para animales machos y se recomienda un período de recolección de 5 días (Le Du y Penning, 1982). Por su parte, autores tales como Wang et al. (2009), Lukas et al. (2005) y Peripolli et al. (2011) han recopilado datos de ensayos de digestibilidad en ovinos. En la recopilación realizada por Peripolli et al. (2011) con diferentes forrajes se observó una alta correlación (0,85) entre consumo de materia orgánica del forraje y excreción fecal de nitrógeno (g/día), mientras que Azevedo et al. (2014) reportan un  $R^2$  de 0,77 o 0,83 para ecuaciones hiperbólicas simples y múltiples para

predecir la digestibilidad de la materia orgánica a través del nitrógeno fecal y la inclusión de la fibra detergente ácida en la predicción. Como resultado, el contenido de nitrógeno excretado en las heces puede ser utilizado para estimar digestibilidad de los alimentos ingeridos por el animal (Lukas et al., 2005) y también consumo diario de alimentos (Peripolli et al., 2011). El uso de nitrógeno fecal como marcador está basado en que la excreción total de nitrógeno endógeno es proporcional a la cantidad de materia orgánica excretada y, por lo tanto, consumida. En paralelo, la concentración de nitrógeno fecal es proporcional a la digestibilidad de la materia orgánica (Lancaster, 1949; Lukas et al., 2005). Si hay un incremento en la concentración de nitrógeno fecal, a un mismo consumo, se debe explicar por un incremento en la digestibilidad.

La mayor parte de la literatura explora la utilización del nitrógeno fecal para estimar digestibilidad (Boval et al., 2003; Lukas et al., 2005), pero existen trabajos como el de Boval et al. (1996), Peripolli et al. (2011), Azevedo et al. (2014) y David et al. (2014), los cuales utilizan el índice fecal para estimar consumo a través de ecuaciones generadas en situaciones específicas de forraje (cuadros 1 y 2) y obtienen resultados con buena precisión. La técnica ha tenido éxito en pasturas de clima templado (Azevedo et al., 2014; Barthiaux-Thill y Oger, 1986; Thomas y Campling, 1976), así como en pasturas de clima tropical (Boval et al., 1996; David et al., 2014), y es por tal motivo que resulta atractiva. Por su parte, Boval et al. (1996), Peripolli et al. (2011) y Kozloski et al. (2014) encontraron una relación lineal positiva entre el consumo de materia orgánica y la excreción fecal de nitrógeno. Según lo reportado por Kozloski et al. (2018), quienes generaron una ecuación [consumo de materia orgánica (g/día/kg peso vivo) =  $1,1 \pm 0,75 + (101 \pm 5,9 \times \text{nitrógeno fecal (g/día/kg peso vivo)})$ ] para estimar el consumo de campo nativo por ovinos y bovinos, el nitrógeno fecal presentó ventajas en estimar el consumo sobre la técnica de los n-alcanos. Es importante resaltar que la mayoría de las ecuaciones son generadas con una especie forrajera, como son los ejemplos de Azevedo et al. (2014) y David et al. (2014), que generaron ecuaciones específicas para *Lolium multiflorum* y *Pennisetum americanum*, respectivamente. Ecuaciones generales como la de Lukas et al. (2005) y Wang et al. (2009) para digestibilidad, y Peripolli et al. (2011) para digestibilidad y consumo son más escasas. Más raras aún son ecuaciones generadas con múltiples especies como el

campo nativo de la zona del Río de la Plata. En este sentido, Azevedo et al. (2024) y Kozloski et al. (2018) apuntan al nitrógeno fecal como un buen marcador para estimar el consumo de animales consumiendo pasturas nativas.

En el cuadro 1, se pueden observar 6 ecuaciones lineales para estimar consumo de MO utilizando la excreción de nitrógeno fecal (eNf). Estas ecuaciones presentan un rango de  $R^2$  entre 0,73 y 0,90, siendo los valores más altos aquellos logrados con el estudio de pasturas menos diversas, como lo son los trabajos en *Dichanthium* spp, *Pennisetum americanum* y *Lolium multiflorum*. En la medida que la pastura o base forrajera es más compleja o diversa, como en los trabajos de Peripolli et al. (2011) y Kozloski et al. (2014), se obtienen menores ajustes en la ecuación de predicción, lo cual es entendible desde el punto de vista de que la dieta en pasturas diversas puede estar compuesta de diferente forma entre animales y a distintos niveles de consumo. Más allá de ello, los ajustes son altos, considerando dos especies, diferentes dietas forrajeras y la inclusión de suplementos.

Finalmente, se han reportado ecuaciones que incluyen otros elementos o características de la dieta o las excreciones, como es la DMO o la excreción de FDN. En los dos casos, incluidos en el cuadro 1, los  $R^2$  superan 0,90, que es el valor más alto en ecuaciones lineales con un solo elemento (Nf). Estas ecuaciones mejoran el ajuste, aunque son más complejas y requieren más análisis de laboratorio para tener todas las variables independientes que se necesitan para su cálculo. Es de destacar el reciente trabajo realizado por Azevedo et al. (2024), quienes incorporan 3 variables independientes y logran un  $R^2$  de 0,95, trabajando con pasto nativo con inclusiones de raigrás. Es interesante determinar si el excluir el raigrás de la dieta afecta ese resultado.

En el cuadro 2 se reportan 17 ecuaciones de predicción de la digestibilidad de la materia orgánica. Son muy variados los tipos de modelos utilizados para el desarrollo de las ecuaciones: se incluyen modelos de tipo líneal, exponencial, hiperbólico, lineal múltiple, curvílineo, mixto no lineal y exponencial múltiple, con  $R^2$  de 0,36 a 0,89. En una primera observación, para la predicción de la digestibilidad, se utiliza un mayor número de modelos dependiendo de las características del estudio, y también hay una mayor variabilidad en el  $R^2$ , con un mínimo y máximo inferiores a los modelos de predicción de consumo de materia orgánica con base en elementos de las excreciones.

En esta oportunidad, nuevamente pareciera que pasturas más diversas o con un menor rango de variación de la digestibilidad (C4 o pastos nativos predominancia C4) presentan menos ajustes que pasturas menos diversas y con un mayor rango de digestibilidad de la materia orgánica (pasto nativo con raigrás, Lolium, forrajes templados).

En síntesis, si bien depende de cada caso en particular, el consumo de materia orgánica puede predecirse con un buen  $R^2$  con modelos lineales con base en la excreción de N fecal, mientras que la digestibilidad presenta buenos ajustes con modelos que no necesariamente son lineales y en función de la concentración de N fecal. También es frecuente que el mejor modelo incluya otras características como la FDA o FDN fecal.

### Cuadro 1

Resumen de estudios que generaron ecuaciones de estimación de consumo con base en la cantidad de nitrógeno excretado (Nf) en heces con diferentes tipos de forrajes y especie animal.

| Fuente                  | Ecuación                                | R <sup>2</sup> | Tipo de Modelo  | Especie Forrajera                                               | Especie Animal  |
|-------------------------|-----------------------------------------|----------------|-----------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------|
| Boval et al. (1996)     | CMO = 2,327 + 12,59 × Nf                | 0,86           | Lineal          | <i>Dichanthium</i> spp                                          | Bovinos         |
| Peripolli et al. (2011) | CMO = 216,17 + 11,09 × Nf               | 0,73           | Lineal          | 27 forrajes utilizados en Río Grande del Sur                    | Ovinos          |
| Kozloski et al. (2014)  | CMO = 356 + 55,4 × Nf                   | 0,76           | Lineal          | Forrajes tropicales y subtropicales con y sin suplementos       | Ovinos          |
| Kozloski et al. (2018)  | CMO = 1,1 + 101 × Nf                    |                | Lineal          | Pasturas nativas del Río de la Plata                            | Ovinos, Bovinos |
| David et al. (2014)     | CMO = 23,949 + 15,31 × PCf              | 0,90           | Lineal          | <i>Pennisetum americanum</i>                                    | Ovinos          |
| David et al. (2014)     | CMO = 16,52 + 29,15 × PCf – 5,38 × FDNf | 0,94           | Lineal múltiple | <i>Pennisetum americanum</i>                                    | Ovinos          |
| Azevedo et al. (2014)   | CMO = 111,33 + 18,33 x PCf              | 0,78           | Lineal          | <i>Lolium multiflorum</i> Lam.                                  | Ovinos          |
| Azevedo et al. (2024)   | CMO = 1,346 x PCf – 47,63               | 0,93           | Lineal múltiple | Pasto nativo ubicado en el bioma pampa e inclusiones de raigrás | Bovinos         |

Nota. CMO = consumo de materia orgánica; Nf = nitrógeno fecal; PCf = proteína cruda fecal; FDNf = fibra detergente neutro fecal; DMO = digestibilidad de materia orgánica.

## Cuadro 2

Resumen de estudios que generaron ecuaciones de estimación de digestibilidad con base en la cantidad de nitrógeno excretado (Nf) en heces con diferentes tipos de forrajes y especie animal.

| Fuente                   | Ecuación                                                  | R <sup>2</sup> | Tipo de Modelo  | Especie Forrajera                            | Especie Animal |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------|-----------------|----------------------------------------------|----------------|
| Comeron y Peyraud (1993) | $DMO = 0,612 + 0,042 Nf$                                  | 0,72           | Lineal          | Forrajes de zonas templadas                  | Bovinos        |
| Comeron y Peyraud (1993) | $DMO = 0,342 + 0,188 Nf - 0,018 Nf^2$                     | 0,83           | Cuadrática      | Forrajes de zonas templadas                  | Bovinos        |
| Comeron y Peyraud (1993) | $DMO = 0,78 + 0,0334 Nf - 0,0038 FDAf$                    | 0,89           | Lineal múltiple | Forrajes de zonas templadas                  | Bovinos        |
| Boval et al. (2003)      | $DMO = 0,8161 - 1,9864/PCf$                               | 0,71           | Hiperbólica     | <i>Digitaria decumbens</i>                   | Ovinos         |
| Boval et al. (2003)      | $DMO = 0,4748 + 0,0143 PCf$                               | 0,75           | Lineal          | <i>Digitaria decumbens</i>                   | Ovinos         |
| Lukas et al. (2005)      | $DMO = 79,76 - 107,7 \exp^{(-0,01515 \times PCf)}$        | 0,82           | Curvilínea      | Hohenheim y Braunschweig, Alemania           | Bovinos        |
| Lukas et al. (2005)      | $DMO = 72,86 - 107,7 \exp^{(-0,01515 \times PCf)}$        | 0,82           | Curvilínea      | Gumpenstein, Austria                         | Bovinos        |
| Wang et al. (2009)       | $DMO = 0,899 - 0,644 \exp^{(-0,5774 \times PCf/100)}$     |                | Mixto no lineal | 7 tipos de forrajes representados            | Ovinos         |
| Peripolli et al. (2011)  | $DMO = 0,7236 - 0,3598 \exp^{((-0,9052 \times PCf)/100)}$ | 0,36           | No Lineal       | 27 forrajes utilizados en Río Grande del Sur | Ovinos         |

|                       |                                                         |      |                      |                                                                 |         |
|-----------------------|---------------------------------------------------------|------|----------------------|-----------------------------------------------------------------|---------|
| Azevedo et al. (2014) | $DMO = 1,01557 - 39,6067/PCf$                           | 0,77 | Hiperbólica simple   | <i>Lolium multiflorum Lam.</i>                                  | Ovinos  |
| Azevedo et al. (2014) | $DMO = 1,11581 - 23,4416/PCf - 0,000590151 FDAf$        | 0,83 | Hiperbólica múltiple | <i>Lolium multiflorum Lam.</i>                                  | Ovinos  |
| David et al. (2014)   | $DMO = 1,20838 - 112,831/PCf$                           | 0,53 | Hiperbólica simple   | <i>Pennisetum Americanum</i>                                    | Ovinos  |
| David et al. (2014)   | $DMO = 1,24238 - 106,421/PCf - 0,000182763 \times FDAf$ | 0,54 | Hiperbólica múltiple | <i>Pennisetum Americanum</i>                                    | Ovinos  |
| David et al. (2014)   | $DMO = 1,29325 - 98,2962/PCf - 0,000239755 \times FDNf$ | 0,56 | Hiperbólica múltiple | <i>Pennisetum Americanum</i>                                    | Ovinos  |
| David et al. (2014)   | $DMO = 1,5313 - 1,1486 \exp^{(-0,154 \times PCf/100)}$  | 0,77 | Exponencial          | <i>Pennisetum Americanum</i>                                    | Ovinos  |
| Azevedo et al. (2024) | $DMO = 0,709 - 9,506 \exp^{(-0,041 \times PCf)}$        | 0,61 | Exponencial          | Pasto nativo ubicado en el bioma pampa e inclusiones de raigrás | Bovinos |
| Azevedo et al. (2024) | $DMO = 0,942 - 38,619/PCf$                              | 0,62 | Hiperbólica          | Pasto nativo ubicado en el bioma pampa e inclusiones de raigrás | Bovinos |

*Nota.* DMO = digestibilidad de materia orgánica; Nf = nitrógeno fecal; PCf = proteína cruda fecal; FDAf = fibra detergente ácido fecal; FDNf = fibra detergente neutro fecal.

En los sistemas de producción ganaderos, cobra gran relevancia evaluar el valor nutritivo de la dieta de los animales, siendo el consumo y la digestibilidad parámetros claves; de este modo es posible gestionar adecuadamente los recursos, puesto que el desconocimiento puede dificultar las estrategias y decisiones que se desean realizar. En Uruguay, los sistemas productivos se caracterizan por condiciones de pastoreo de pasturas nativas, las cuales pueden condicionar diferentes niveles de consumo. Los niveles variables de consumo pueden generar diversas respuestas en múltiples variables y, de este modo, pueden afectar el uso de los nutrientes y la producción animal. Por lo tanto, abordar estas relaciones es relevante para evaluar el impacto real de los sistemas de producción en pastoreo sobre pasturas nativas. De este modo, se podrían diseñar prácticas de gestión de pastoreo que conduzcan a tener sistemas más eficientes y resilientes.

La estrategia de investigación diseñada para desarrollar una ecuación de estimación de consumo y digestibilidad de forraje permite la medición de algunas variables adicionales, como ser producción de orina, ambiente ruminal, emisión de metano y comportamiento ingestivo. La medición de dichas variables permitirá un mayor conocimiento sobre el efecto de la restricción alimentaria de forraje en parámetros de nutrición animal (Goopy et al., 2020). Una investigación como la planteada en este proyecto conlleva la movilización de varios recursos, por lo que parece pertinente hacer fructífera la oportunidad y utilizar dichos recursos de la manera más eficiente posible, para aumentar la generación de conocimiento en relación con la inversión realizada.

## **1.2. Hipótesis**

El nitrógeno fecal es un marcador interno adecuado que presenta una alta precisión para estimar el consumo y la digestibilidad de la materia orgánica en ovinos alimentadas con pastos nativos de Uruguay.

### **1.3. Objetivos**

#### **2.1.1. General**

Generar modelos de regresión lineales y no lineales basados en la excreción total de nitrógeno en las heces (eNF) y en el contenido de nitrógeno en las heces (cNF) para estimar, respectivamente, el consumo y la digestibilidad de la materia orgánica (MO) en ovinos alimentados con pastos nativos de la región del Río de la Plata en Sudamérica.

#### **2.1.1. Específicos**

Generar una ecuación lineal basada en la eNF para predecir el consumo de MO.

Generar una ecuación no lineal basada en el cNF para predecir la digestibilidad de la MO.

## **2. Using faecal nitrogen as a marker to estimate intake and forage digestibility in sheep fed multi-species native grasslands**

### **2.1. Resumen**

En varias regiones del mundo, las pasturas nativas son el principal alimento para los rumiantes debido a su extensión y distribución geográfica. Los pastizales de la región del Río de la Plata se caracterizan por ser uno de los más grandes del mundo, por tanto, la producción ganadera de la región se desarrolla en su extensa mayoría sobre condiciones de pastoreo, siendo un desafío la estimación del consumo de forraje y por consecuente el diseño de estrategias de manejo de dichos ecosistemas pastoriles. El principal objetivo del presente estudio fue generar una ecuación lineal, basada en la excreción de nitrógeno fecal (eNF), para estimar el consumo de materia orgánica (CMO) y una ecuación no lineal, basado en el contenido de nitrógeno en las heces (cNF), para estimar la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) de ovinos alimentados exclusivamente con forraje de campo natural. En un diseño completamente al azar, 16 borregos Corriedale con promedio de 44,4 kg de peso vivo (PV) fueron alojados en jaulas metabólicas y distribuidos a cuatro tratamientos, dados por cuatro niveles de oferta de forraje (15, 20, 25 g de materia seca/kg PV y *ad libitum*). Durante la primavera de 2019 y el verano de 2020, se realizaron cuatro períodos de medición, con cinco días de acostumbramiento a la jaula metabólica, diez días de acostumbramiento al tratamiento y cinco días de mediciones. El forraje fue cortado una vez al día, ofreciéndose el mismo fresco en dos momentos del día (8 y 17 h). Las mediciones realizadas fueron: consumo de materia seca (diferencia ofrecido-rechazo), excreción total de heces, composición química de heces y alimento. Se generó un modelo de regresión lineal preciso ( $p < 0.001$ ;  $R^2 = 0,93$ ) para predecir el CMO en función de la eNF [CMO (g/animal/día) =  $90,1 + 105,5 \times \text{eNF}$ ];. Además, se generó un modelo preciso de regresión exponencial ( $p < 0.001$ ;  $R^2 = 0.56$ ) para estimar la DMO en ovinos basado en el cNF [DMO (kg/kg MO) =  $0.17506e^{0.0653 \times \text{FNc}}$ ]. En conclusión, nuestros hallazgos resaltan que la eNF y el cNF son precisos para estimar

el CMO y la DMO, respectivamente, en ovinos alimentadas con pastos nativos de la región del Río de la Plata en Sudamérica.

**Palabras clave:** campo natural; consumo de alimento; excreción de nitrógeno; marcador interno; proteína cruda fecal

## 2.2. Summary

In several regions worldwide, native grasslands are the primary feed for ruminants due to their extensive coverage and geographical distribution. The grasslands in the Rio de la Plata region are characterized as one of the largest in the world; thus, livestock production in the region mainly occurs under grazing conditions. Estimating forage intake is challenging, consequently, designing management strategies for these pastoral ecosystems is crucial. The main objective of this study was to develop a linear equation based on fecal nitrogen excretion (FNe) to estimate organic matter intake (OMI) and a nonlinear equation based on fecal nitrogen content (FNc) to estimate organic matter digestibility (OMD) in sheep exclusively fed with a native grassland. In a completely randomized design, 16 Corriedale sheep with an average live weight (LW) of 44.4 kg were housed in metabolic cages and assigned to four treatments corresponding to four levels of forage allowance (15, 20, 25 g dry matter/kg LW, and *ad libitum*). Four measurement periods were conducted during the spring of 2019 and the summer of 2020, consisting of five days of acclimatization to metabolic cages, ten days of acclimatization to treatments, and five days of measurements. Forage was harvested once daily and offered fresh twice daily (at 8 am and 5 pm). The measurements included dry matter intake (difference between offered and refused), total fecal excretion, and chemical composition of feces and forage. A precise linear regression model ( $p < 0.001$ ;  $R^2 = 0.93$ ) was developed to predict OMI based on Fne [OMI (g/animal/day) =  $90.1 + 105.5 \times \text{Fne}$ ]. Furthermore, a precise exponential regression model ( $p < 0.001$ ;  $R^2 = 0.56$ ) was generated to estimate OMD in sheep based on FNc [DMO (kg/kg OM) =  $0.17506e^{0.0653 \times \text{FNc}}$ ]. In conclusion, our findings

highlight that Fne and FNc are accurate for estimating OMI and OMD, respectively, in sheep fed with native grassland from the Rio de la Plata region in South America.

**Keywords:** faecal crude protein; feed consumption; internal marker; natural grassland; nitrogen excretion

### 2.3. Introduction

Native grasslands are the main food source for sheep and cattle in many regions of the world. Grasslands are distributed on all continents (except Antarctica), occupying 30% of the earth's surface. The high diversity native grasslands from the Rio de la Plata region (Andrade et al., 2018) in South America (28°S-38°S, 50°W-61°W) are characterized by being one of the largest in the world, encompassing the entirety of Uruguay, the central-eastern region of Argentina, and a portion of southern Brazil (see Baeza and Paruelo, 2020). This ecosystem is used for extensive livestock production, in addition to providing other ecosystem services, particularly when subject to effective management practices (Modernel et al., 2016). Among the ecosystem services are the sustenance of animal and plant biodiversity, control of soil erosion and storage of soil organic carbon, regulation of the cycle of nutrients, and water supply (Costanza et al., 1997; Chalar et al., 2017), and mitigation of greenhouse gas emissions, e.g., methane from the enteric fermentation, under moderate grazing intensity conditions (Cezimbra et al., 2021).

Well-managed pastures are considered those that have an ideal sward structure to favour animal grazing time, which consequently results in improvements in their nutrient intake (Carvalho, 2013). Measuring nutrient or forage intake by animals directly proves challenging, especially in heterogeneous native grasslands, due in part to the varied diet they consume, comprising different plant species, plant parts, and nutrient content that deviates from the average available plant biomass. For this reason, it is relevant to be able to estimate the forage intake and digestibility in grazing animals, which would allow the development of grazing management strategies and

the design of well-planned pastoral ecosystems (Jaurena et al., 2021). Mainly because the intake of forage by animals is directly related to their performance (Boval et al., 2015; Salah et al., 2015) and, is the key variable used to develop models to predict methane emissions from enteric fermentation in ruminants (Niu et al., 2018; Congio et al., 2022; Belanche et al., 2023). Nevertheless, there is no optimal standard method for estimating intake in pastoral ecosystems, and this is because it cannot be measured directly (Penning, 2004).

Therefore, numerous efforts have been made to develop and validate both direct and indirect methodologies to estimate intake and forage digestibility in animals at grazing conditions (Lancaster, 1949; Mayes and Dove, 2000; Dove and Mayes, 2005; Kozloski et al., 2018; Garrett et al., 2020; Andriarimalala et al., 2021), as well as in plant biomass (Langlands, 1987; Dove and Mayes, 1996; Mayes and Dove, 2000), which vary in cost, accuracy, reliability and labour (Gordon, 1995). Among the developed methodologies those based on the use of internal markers and the chemical composition of the faeces are attractive since they allow for predicting the intake and forage digestibility in individual animals (Penning and Johnson, 1983). If the focus is on internal markers, the estimation technique through the excretion of faecal nitrogen (N) is one of the most used due to its applicability and analysis methodology (Savian et al., 2018). The development of this technique requires feed intake tests under controlled conditions, in order to establish the relationship between faecal N excretion (Fne) and organic matter (OM) intake, and faecal N content (FNc) and OM digestibility, and thus to generate estimating regression models, respectively (Peripolli et al., 2011).

Most of the literature explores the use of non-linear regression models based on the FNc to estimate OM digestibility in ruminants, such as exponential (e.g., Lukas et al., 2005; Wang et al., 2009; Peripolli et al., 2011) and hyperbolic (e.g., Boval et al., 2003; Azevedo et al., 2014; David et al., 2014) models. Furthermore, there are some studies that used linear regression models to estimate intake in ruminants, demonstrating a strong relationship between OM intake and Fne with specific forages (e.g., Azevedo et al., 2014; David et al., 2014) and with different types of forages (e.g., Peripolli et al., 2011; Kozloski et al., 2014; Azevedo et al., 2024). For instance,

Azevedo et al. (2014) and David et al. (2014) generated specific algorithms for Italian ryegrass and pearl millet pastures, respectively. More complex regression models like those developed by Lukas et al. (2005) and Wang et al. (2009), for OM digestibility, and Peripolli et al. (2011), for OM digestibility and intake, are scarcer. Rarer still are models generated with multi-species native grasslands. However, it has been indicated that the faecal N has the potential to be used as a marker to estimate the intake of animals consuming multi-species native grasslands (Kozloski et al., 2018; Azevedo et al., 2024).

In this way, we hypothesized that faecal N is a suitable internal marker that presents high accuracy for estimating OM digestibility and intake by sheep-fed multi-species native grasslands. This study aimed to generate non-linear and linear regression models based on FNC and FNE to estimate OM digestibility and intake, respectively, in sheep-fed multi-species native grasslands from the Rio de la Plata region in South America.

## **2.4. Materials and methods**

All animal procedures were approved by the Animal Ethics Committee of the National Agricultural Research Institute (INIA, 2019.10 protocol).

### **2.4.1. Location, treatments and experimental design**

The experiment was conducted at the Glencoe Research Station of INIA, Paysandú, Uruguay (32°00'21''S, 57°08'06''W, altitude 124 m) during spring and summer, from November 2019 to February 2020. During these months, air average temperature and total monthly rainfall were 22.9 °C and 117.5 mm, respectively.

In a completely randomized design experiment, sheep were fed with different levels of forage allowance [15, 20 and 25 g of dry matter (DM) per kg of live weight (LW), and *ad libitum* access to feed], as proposed by Azevedo et al. (2014) and Kozloski et al. (2018). In the treatment that sheep were fed *ad libitum*, the amount of forage offered was 20% greater than the potential intake capacity of the sheep (NRC,

2007); actual sheep intake was measured during the adaptation periods, and later, confirmed during the sampling days.

#### **2.4.2. Experimental procedures**

Prior to starting the experiment, sheep were randomly assigned to each treatment and placed in the metabolic cages (Rymer, 2000). Sheep and metabolic cages remained fixed, while the treatments rotated when a new period of measurement started (explained later).

Four measurement periods were carried out in spring 2019 (periods 1 and 2) and summer 2020 (periods 3 and 4). Each sheep was evaluated once in each level of forage allowance treatment ( $n = 64$ ; 16 sheep  $\times$  4 measurement periods).

Two months before the start of the indoor trial, all sheep grazed the same multi-species native grassland used later, in a single flock, in order to be adapted to the forage. Before the first measurement period in spring and summer, five extra days of sheep adaptation to the metabolic cages were performed, and the two measurement periods per season were conducted in sequence. Then, in all measurement periods, sheep had 10 days for acclimatisation to the forage allowance treatments, followed by 5 days for forage and faeces sampling (Kozloski et al., 2014). During the first 5 days of adaptation to the metabolic cage, the same amount of forage was offered ad libitum to all the animals, while during the following 10 days of acclimatisation to the treatments and the 5 days of sampling, they received the amount of forage corresponding to their treatment.

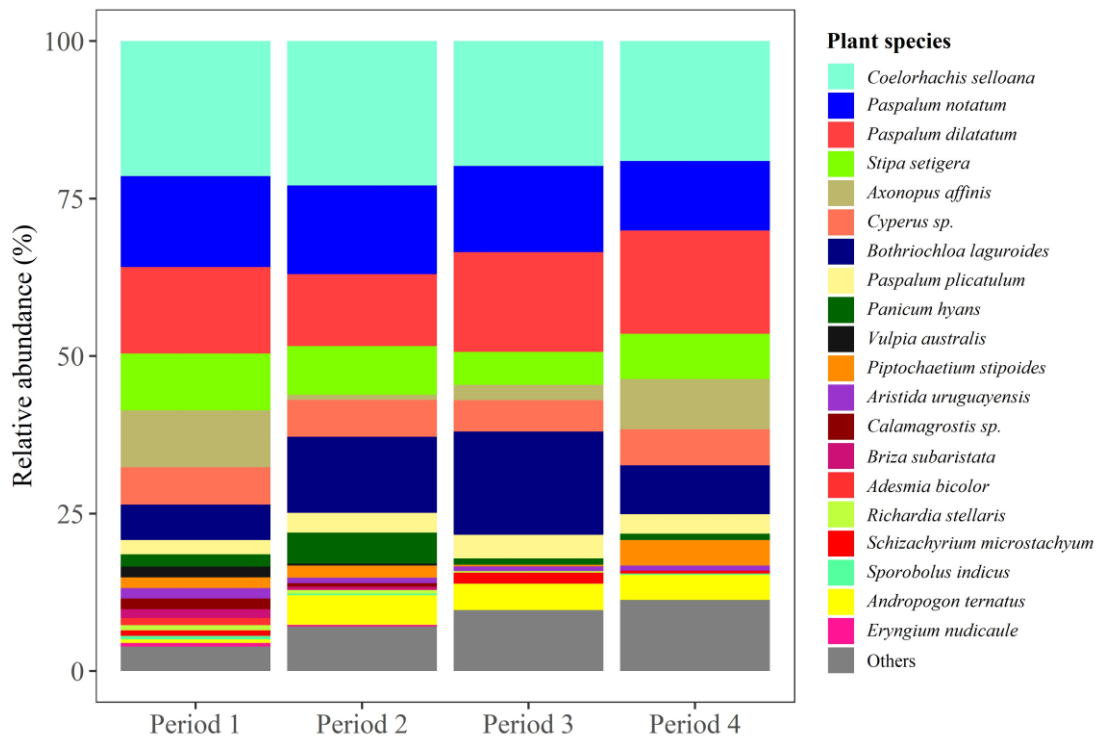
#### **2.4.3. Pasture management and measurements**

The forage used in this experiment was a multi-species native grassland from the Rio de la Plata region in South America (Andrade et al., 2018) dominated by C4 perennial grasses and C3 perennial grasses to a lesser proportion. Before the experiment began, two hectares of this native grassland were fenced and kept in free growth (ungrazed) to accumulate forage for the indoor experiment.

The measurements made in the pasture at the beginning of each experimental period were forage mass, sward canopy height and botanical composition. Forage mass was estimated by five cuts of 20 × 50 cm quadrat frame at the ground level with electric scissors in random sites in the paddock (’t Mannetje, 2000). The forage samples were dried in a forced-air oven at 55 °C for 72 h, and then these samples were weighed on a precision balance (0.01 g) to estimate the amount of partial DM per hectare. A total of 20 forage mass samples were measured (5 samples × 4 measurement periods).

The sward canopy height was randomly measured by recording 100 heights made in a zigzag within the paddock. Therefore, a sward stick was used following the methodology proposed by Barthram (1985). A total of 400 sward height readings were performed (100 readings × 4 measurement periods).

The botanical composition of the native grassland was estimated using the Botanal method proposed by (Waite, 1994). Briefly, the vegetal species within a 1 m<sup>2</sup> quadrat frame were recorded and the frequency (%) of each one of them was estimated. In each measurement period, 20 random measurements were made in the paddock, which means that a total of 80 measurements of botanical composition were performed (20 measurements × 4 measurement periods). The multi-species native grassland used in this study (Figure 1) was composed of 62 plant species with similar composition in the four measurement periods. However, approximately 80% of the relative abundance of the vegetation was represented by eight plant species. The native grassland was composed of C4 perennial grasses (*Coelorhachis selloana*, *Paspalum notatum*, *Paspalum dilatatum*, *Axonopus affinis*, *Bothriochloa laguroides* and *Paspalum plicatulum*) and C3 perennial grasses (*Stipa setigera*, and *Cyperus* sp).



**Figure 1.** Plant species richness of the native grassland used to feed the sheep.

**Note:** The others plant species are represented by *Adesmia bicolor*, *Agrostis montevidensis*, *Apium leptophyllum*, *Aristida venustula*, *Baccharis trimera*, *Briza minor*, *Briza subaristata*, *Bromus auleticus*, *Calamagrostis*, *Calamagrostis montevidensis*, *Caloteca brizoides*, *Cerastium glomeratum*, *Chaptalia piloselloides*, *Chevreulia sarmentosa*, *Desmodium incanum*, *Desmanthus virgatus*, *Eragrostis lugens*, *Eryngium nudicaule*, *Euphorbia sp.*, *Evolvulus sericeus*, *Galactia Marginalis*, *Galium richardianum*, *Gamochaeta sp.*, *Gamochaeta spicata*, *Hordeum pusillum*, *Juncus sp.*, *Lathyrus sp.*, *Leptocoriphium lanatus*, *Lolium multiflorum*, *Melica rigida*, *Rhynchosia senna*, *Richardia humistrata*, *Richardia stellaris*, *Schizachyrium spicatum*, *Schizachyrium microstachyum*, *Setaria geniculata*, *Sporobolus indicus*, *Sporobolus sp.*, *Stylosanthes montevidensis*, *Trachypogon montufari*, *Verbena gracilescens*, *Vulpia australis*.

#### **2.4.4. Animal management and measurements**

Sixteen castrated male Corriedale wethers with an average of 15-month-old and 44.4 kg LW were individually housed in metabolism cages and randomly assigned to the treatments. The same sheep were used for the four measurement periods, in spring 2019 (periods 1 and 2) and summer 2020 (periods 3 and 4).

All sheep were drenched before the experiment (only before period 1, in spring, and before period 3, in summer) to ensure lower infection with internal parasites; Naftalophos 15% (Vermkon®, Lab König, Buenos Aires, Argentina; 35 mg/kg LW) was used. Faecal samples were collected directly from the rectum before starting each measurement period for analysis of internal parasites and to verify that all sheep presented negligible to low gastrointestinal parasite infestation. The faecal egg count for all measurement periods was on average 247 eggs per gram of faeces, estimated by using the modified McMaster technique (Whitlock, 1948).

All sheep were unfasted weighed at the beginning of the period of adaptation to the treatment and the beginning of the sampling period, in order to adjust the forage allowance according to sheep LW.

#### **2.4.1.1. Forage harvesting and sheep feeding**

Every day, the forage needed to feed the sheep in the afternoon and the following morning was cut and harvested in the field always in the early afternoon. We used a forage mower to cut the sward; this machine cuts the pasture without grinding and chopping it. The forage was cut leaving approximately 4 cm of forage stubble height. The forage to feed the sheep the following morning was stored overnight in a refrigerator (0–4 °C) in an open bag to keep it fresh.

Fresh forage was offered to sheep individually according to their LW and treatment twice a day (8 and 17 h). Every morning, prior to feeding the sheep, feed refusals of each animal from the previous day were removed and weighed on a precision scale (0.01 g). During the 5 days of sampling, every day, the offered forage was sampled in two moments (morning and afternoon), which means that approximately 100 g of fresh forage was taken at each moment; forage samples were taken representatively from the bags and were used to represent the forage offered to all animals ( $n = 20$ ; 5 samples per period  $\times$  4 measurement periods). Each forage sample was weighed immediately after sampling, and both offered and refused forage samples were dried in a forced-air oven at 55 °C for 72 h. The animals had free access to drinking water all the time.

The forage refusal of each sheep was sampled once a day and the samples from the five days were pooled in a single sample, then a total of 16 samples of forage refusal (one sample per sheep) were obtained in each measurement period ( $n = 64$ ; 16 samples per period  $\times$  4 measurement periods).

In addition, a pooled sample from the morning and afternoon of the forage offered to the sheep (100 g of fresh forage) was used to evaluate morphological composition by manual separation [ $n = 20$ ; 5 samples (from 5 days)  $\times$  4 measurement periods]. Fresh forage samples were separated into green and senescent material, and each fraction was weighed on a precision scale (0.01 g). Afterwards, these samples were placed in a forced-air oven at 55 °C for 72 h to obtain partial DM of green and dry material.

#### **2.4.1.2. Faecal excretion**

The total daily faecal excretion of sheep was collected during the 5 days of each measurement period. Each sheep was equipped with a harness and nylon bag; below the metabolic cages, a specially designed floor and buckets were used to collect the faeces that casually fell out of the bags. The bags were emptied every day in the morning, before feeding the animals. Subsequently, the daily faecal sample of each animal was weighed fresh on a precision scale (0.01 g), pooled, and then a subsample of 20% of the total was taken, and oven-dried at 55 °C for 96 h. Finally, the 5-day faecal samples were pooled in one single sample for each sheep, and then a total of 16 samples of faeces (one sample per sheep) were obtained in each measurement period ( $n = 64$ ; 16 samples per period  $\times$  4 measurement periods).

#### **2.4.5. Forage and faeces samples preparation and chemical analysis**

All oven-dried forage and faecal samples were ground with a knife mill through a 1-mm screen. Forage and faeces samples were analyzed for DM (105 °C; method ID 934.01), OM (method ID 967.05), crude protein (Kjeldahl N  $\times$  6.25; method ID 984.13), and lignin (ID method 973.18) according to AOAC (1995), and acid detergent

fibre (ADF), neutral detergent fibre (NDF) were analysed according to Van Soest et al. (1991).

#### **2.4.6. Calculations and equations validation**

The observed partial DM (55 °C) content of offered and refused forage, and faeces were corrected to the DM (105 °C) and organic matter (OM) contents. Afterwards, the daily sheep intake of DM and OM was calculated as the difference between the forage offered and refused in the average of the five days of each measurement period. Digestibility of each fraction was calculated taking into account sheep intake and faecal excretion of the fraction as follows:  $\text{digestibility} = (\text{intake} - \text{excretion}) \div \text{intake} \times 100$ . The fecal nitrogen excretion by sheep was based on the content of N in faeces and the total faecal DM excretion.

A new data set of 32 sheep fed the same multi-species native grassland was used to validate the equations developed in this study. This trial was carried out in the summer of 2021, in the same place and with the same protocol of metabolic cages and following all the same procedures described here. Sixteen castrated male Corriedale wethers with an average of 15-month-old and 46.4 kg LW were used in the indoor trial and were evaluated during two measurement periods. The sheep were fed forage ad libitum with different sward structure treatments based on three stockpiled forage times.

#### **2.4.7. Statistical analyses**

The information analysed was 64 data from 16 sheep (16 animals  $\times$  4 treatments). These data passed quality controls by biological inconsistencies (i.e., DM digestibility lower than 18 g/kg OM) or atypical values that deviate from  $\pm 3$  standard deviations of the student residual of the algorithm  $\text{OM intake} = \text{fecal N} + e$ , remaining at the end 62 data.

A collinearity analysis was carried out where the different variables that could be affecting the animal OM intake (g/sheep/day) were studied, i.e.: LW, excretion and

contents of DM, OM, N and fibre in the faeces), using the PROC REG procedure of SAS software (2023, Cary, NC, U.S.).

Using the PROC GLM procedure of the same statistical package, a linear model was generated to adjust OM intake by animal (g/sheep/day) and forage OM digestibility (kg/kg), using the variables that did not show collinearity as covariates and dividing them into two groups (a) total excretion of the parameter and (b) concentration of the parameter.

The coefficient of determination ( $R^2$ ) was estimated for each regression equation and the Pearson and Spearman correlations for the different estimates and the actual sheep intake and digestibility of OM were recorded.

Likewise, a validation of the regression models proposed in the experiment using a second external dataset comprising 32 sheep that were fed with multi-species native grassland, was performed.

Following the recommendations proposed by Piñeiro et al. (2008), the validation was performed by regressing observed values (in the y-axis) versus predicted values with the proposed model (in the x-axis). The correlation and determination coefficients were estimated with the CORR and the REG procedure of SAS software, respectively. Additionally, we estimated the root mean squared deviation (RMSD) which represents the mean deviation of predicted values with respect to the observed ones as recommended by Piñeiro et al. (2008). The RMSD results in the same units as the model variable.

## **2.5. Results**

### **2.5.1. Sward characteristics**

Table 1 shows the sward structure and, the morphological and chemical composition of the forage in accordance with the period (1 and 2 in spring, and 3 and 4 in summer). Both the sward structure and morphological composition of the native grassland were affected by the measurement periods. Sward height was greater ( $p < 0.001$ ) in period 2 compared to periods 1, 3 and 4. Forage mass was greater ( $p < 0.001$ )

in period 2 compared with the other periods. There was an effect of periods on green and dry fractions of the forage, with a greater ( $p < 0.001$ ) green fraction in periods 3 and 4 than in periods 1 and 2, and a lower ( $p < 0.001$ ) dry fraction in periods 3 and 4 than in periods 1 and 2.

Most variables related to the chemical composition of the forage, such as DM, OM, NDF and lignin contents were affected by the measurement period ( $p < 0.05$ ; Table 1). However, there was no evidence for any effect of the measurement period on CP ( $p = 0.652$ ) and ADF ( $p = 0.067$ ) contents in the forage.

**Table 1.** Means and SEM of sward structure, morphological and chemical composition of a multi-species native grassland fed to sheep in different periods of the year

| Parameter                            | Period |       |       |        | SEM  | p.value |
|--------------------------------------|--------|-------|-------|--------|------|---------|
|                                      | 1      | 2     | 3     | 4      |      |         |
| <b>Sward structure</b>               |        |       |       |        |      |         |
| Sward height (cm)                    | 9.1b   | 13.0a | 9.9b  | 9.9b   | 0.36 | <0.001  |
| Forage mass (kg DM/ha)               | 1348c  | 2718a | 2144b | 1762bc | 184  | <0.001  |
| <b>Morphological composition</b>     |        |       |       |        |      |         |
| Green fraction <sup>1</sup>          | 550b   | 599b  | 746a  | 767a   | 317  | <0.001  |
| Dry fraction <sup>1</sup>            | 430a   | 378a  | 225b  | 205b   | 335  | <0.001  |
| <b>Chemical composition</b>          |        |       |       |        |      |         |
| Dry matter <sup>2</sup>              | 385b   | 370b  | 453a  | 451a   | 114  | <0.001  |
| Organic matter <sup>3</sup>          | 842a   | 826b  | 823b  | 831ab  | 42   | 0.025   |
| Crude Protein <sup>3</sup>           | 84     | 88    | 86    | 79     | 54   | 0.652   |
| Acid detergent fiber <sup>3</sup>    | 408    | 386   | 398   | 409    | 62   | 0.067   |
| Neutral detergent fiber <sup>3</sup> | 681a   | 626b  | 634b  | 637b   | 96   | 0.004   |
| Lignin <sup>3</sup>                  | 72b    | 76b   | 85a   | 86a    | 29   | 0.008   |

<sup>1</sup> g/kg dry matter (DM) at 55 °C; <sup>2</sup> g/kg fresh forage; <sup>3</sup> g/kg dry matter (DM) at 105 °C.

Period 1, November 2019 (spring); Period 2, December 2019 (spring); Period 3, January 2020 (summer); Period 4, February 2020 (summer).

SEM, standard error of the mean.

Means followed different letters within lines are significantly different at  $p < 0.05$ .

### 2.5.2. Faecal chemical composition and excretion

Faecal chemical composition and excretion by sheep are shown in Table 2. There was no evidence for any effect of interaction ( $p > 0.05$ ) between treatment (forage allowance) and measurement period on sheep faecal chemical composition. In addition, all variables related to faecal chemical composition (DM, OM, N, ADF, and

lignin) were affected ( $p < 0.001$ ) by the measurement period, except the faecal NDF content ( $p = 0.064$ ). However, there was no evidence for any effect of forage allowance treatment on the faecal contents of OM ( $p = 0.837$ ), N ( $p = 0.854$ ), ADF ( $p = 0.636$ ), NDF ( $p = 0.877$ ) and lignin ( $p = 0.374$ ), except for the faecal DM content ( $p < 0.001$ ).

For excretion of DM ( $p = 0.005$ ), OM ( $p = 0.007$ ), N ( $p = 0.001$ ), ADF ( $p = 0.004$ ), NDF ( $p = 0.024$ ) and lignin ( $p < 0.001$ ) in sheep faeces, an interaction between treatment (forage allowance) and measurement period was found. In addition, all variables related to sheep faecal excretion (DM, OM, N, ADF, NDF and lignin) were affected by the treatment ( $p < 0.001$ ) and measurement period ( $p < 0.001$ ).

**Table 2.** Means and SEM of faecal chemical composition and excretion by sheep fed a multi-species native grassland under four forage allowance treatments and in different periods of the year

| Parameter                      | Forage allowance (% LW/day) |       |       |                   | Period |       |       |       | SEM  | T      | P      | T×P    |
|--------------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------------------|--------|-------|-------|-------|------|--------|--------|--------|
|                                | 1.5                         | 2.0   | 2.5   | <i>ad libitum</i> | 1      | 2     | 3     | 4     |      |        |        |        |
| Faecal chemical composition    |                             |       |       |                   |        |       |       |       |      |        |        |        |
| DM <sup>1</sup>                | 447a                        | 430b  | 408c  | 408c              | 459a   | 449a  | 393b  | 393b  | 58   | <0.001 | <0.001 | 0.049  |
| OM <sup>2</sup>                | 777                         | 775   | 775   | 776               | 780b   | 765c  | 764c  | 794a  | 21   | 0.837  | <0.001 | 0.728  |
| N <sup>2</sup>                 | 13                          | 13    | 13    | 13                | 14a    | 13b   | 12c   | 12c   | 0.24 | 0.854  | <0.001 | 0.844  |
| ADF <sup>2</sup>               | 502                         | 505   | 508   | 504               | 474c   | 510b  | 522a  | 514ab | 37   | 0.636  | <0.001 | 0.529  |
| NDF <sup>2</sup>               | 641                         | 638   | 634   | 636               | 640ab  | 645a  | 642a  | 623b  | 61   | 0.877  | 0.064  | 0.869  |
| Lignin <sup>2</sup>            | 229                         | 233   | 237   | 233               | 211c   | 238b  | 250a  | 232b  | 33   | 0.374  | <0.001 | 0.825  |
| Faecal excretion (g/sheep/day) |                             |       |       |                   |        |       |       |       |      |        |        |        |
| DM                             | 295c                        | 341b  | 396a  | 389a              | 155c   | 261b  | 501a  | 504a  | 13.8 | <0.001 | <0.001 | 0.005  |
| OM                             | 230c                        | 265b  | 307a  | 302a              | 122c   | 200b  | 383a  | 400a  | 11.1 | <0.001 | <0.001 | 0.007  |
| N                              | 3.66c                       | 4.28b | 4.91a | 4.90a             | 2.19c  | 3.49b | 6.10a | 5.98a | 0.16 | <0.001 | <0.001 | 0.001  |
| ADF                            | 150c                        | 174b  | 204a  | 200a              | 74c    | 133c  | 262b  | 259a  | 7.17 | <0.001 | <0.001 | 0.004  |
| NDF                            | 188c                        | 217b  | 252a  | 248a              | 100c   | 169b  | 322a  | 315a  | 10.1 | <0.001 | <0.001 | 0.024  |
| Lignin                         | 69c                         | 80b   | 95a   | 92a               | 33c    | 62b   | 126a  | 117a  | 3.05 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

<sup>1</sup> g/kg fresh faeces; <sup>2</sup> g/kg dry matter at 105 °C.

LW, live weight; DM, dry matter; OM, organic matter; N, nitrogen; ADF, acid detergent fibre; NDF, neutral detergent fibre.

Period 1, November 2019 (spring); Period 2, December 2019 (spring); Period 3, January 2020 (summer); Period 4, February 2020 (summer).

SEM, standard error of the mean; T, probability for treatment (forage allowance); P, probability for the period of the year; T×P, probability for interaction between T and P.

Means followed by different letters within lines and factors, treatment or period, are significantly different at  $p < 0.05$ .

### **2.5.3. Forage digestibility and intake**

Table 3 shows the observed intake and forage digestibility in sheep fed the multi-species native grassland. For DM, OM, and N intake by sheep (g/day and % LW), an interaction between forage allowance treatment and measurement period was found ( $p < 0.05$ ). Furthermore, DM, OM, and N intake by sheep (g/day and % LW) were affected by the treatment ( $p < 0.001$ ) and measurement period ( $p < 0.001$ ).

There was no evidence for any effect of interaction ( $p > 0.05$ ) between treatment (forage allowance) and measurement period on forage DM ( $p = 0.587$ ) and OM ( $p = 0.599$ ) digestibility. Moreover, there was no evidence for any effect of forage allowance treatment on the forage DM ( $p = 0.099$ ) and OM ( $p = 0.168$ ) digestibility. Nonetheless, both forage DM ( $p < 0.001$ ) and OM ( $p < 0.001$ ) digestibility were affected by the measurement period.

**Table 3.** Observed forage digestibility and intake by sheep fed a multi-species native grassland under four forage allowance treatments and in different periods of the year

| Parameter             | Forage allowance (% LW/day) |       |        |                   | Period |       |       |       | SEM   | T      | P      | T×P    |
|-----------------------|-----------------------------|-------|--------|-------------------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
|                       | 1.5                         | 2.0   | 2.5    | <i>ad libitum</i> | 1      | 2     | 3     | 4     |       |        |        |        |
| Sheep characteristics |                             |       |        |                   |        |       |       |       |       |        |        |        |
| LW (kg)               | 39.3                        | 40.7  | 41.7   | 40.6              | 37.0b  | 35.8b | 45.0a | 44.6a | 0.66  | 0.087  | <0.001 | 0.496  |
| Digestibility (kg/kg) |                             |       |        |                   |        |       |       |       |       |        |        |        |
| DM                    | 0.50ab                      | 0.50a | 0.46b  | 0.50ab            | 0.54a  | 0.56a | 0.47b | 0.39c | 0.12  | 0.099  | <0.001 | 0.587  |
| OM                    | 0.53ab                      | 0.54a | 0.50b  | 0.53ab            | 0.59a  | 0.59a | 0.50b | 0.42c | 0.12  | 0.168  | <0.001 | 0.599  |
| Intake (g/sheep/day)  |                             |       |        |                   |        |       |       |       |       |        |        |        |
| DM                    | 597c                        | 662b  | 724ab  | 742a              | 341d   | 587c  | 938a  | 831b  | 21.9  | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| OM                    | 473c                        | 548b  | 599ab  | 611a              | 295d   | 485c  | 766a  | 686b  | 18.2  | <0.001 | <0.001 | 0.001  |
| N                     | 7.7c                        | 9.1b  | 10.3a  | 11.0a             | 4.4d   | 8.4c  | 14.2a | 11.2b | 0.32  | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Intake (% LW)         |                             |       |        |                   |        |       |       |       |       |        |        |        |
| DM                    | 1.43c                       | 1.60b | 1.69ab | 1.80a             | 0.92d  | 1.65c | 2.07a | 1.86b | 0.05  | <0.001 | <0.001 | 0.004  |
| OM                    | 1.19c                       | 1.32b | 1.40ab | 1.48a             | 0.79d  | 1.36c | 1.69a | 1.54a | 0.04  | <0.001 | <0.001 | 0.006  |
| N                     | 0.19d                       | 0.22c | 0.24b  | 0.27a             | 0.12c  | 0.23b | 0.31a | 0.25b | 0.007 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

LW, live weight; DM, dry matter; OM, organic matter; N, nitrogen.

Period 1, November 2019 (spring); Period 2, December 2019 (spring); Period 3, January 2020 (summer); Period 4, February 2020 (summer).

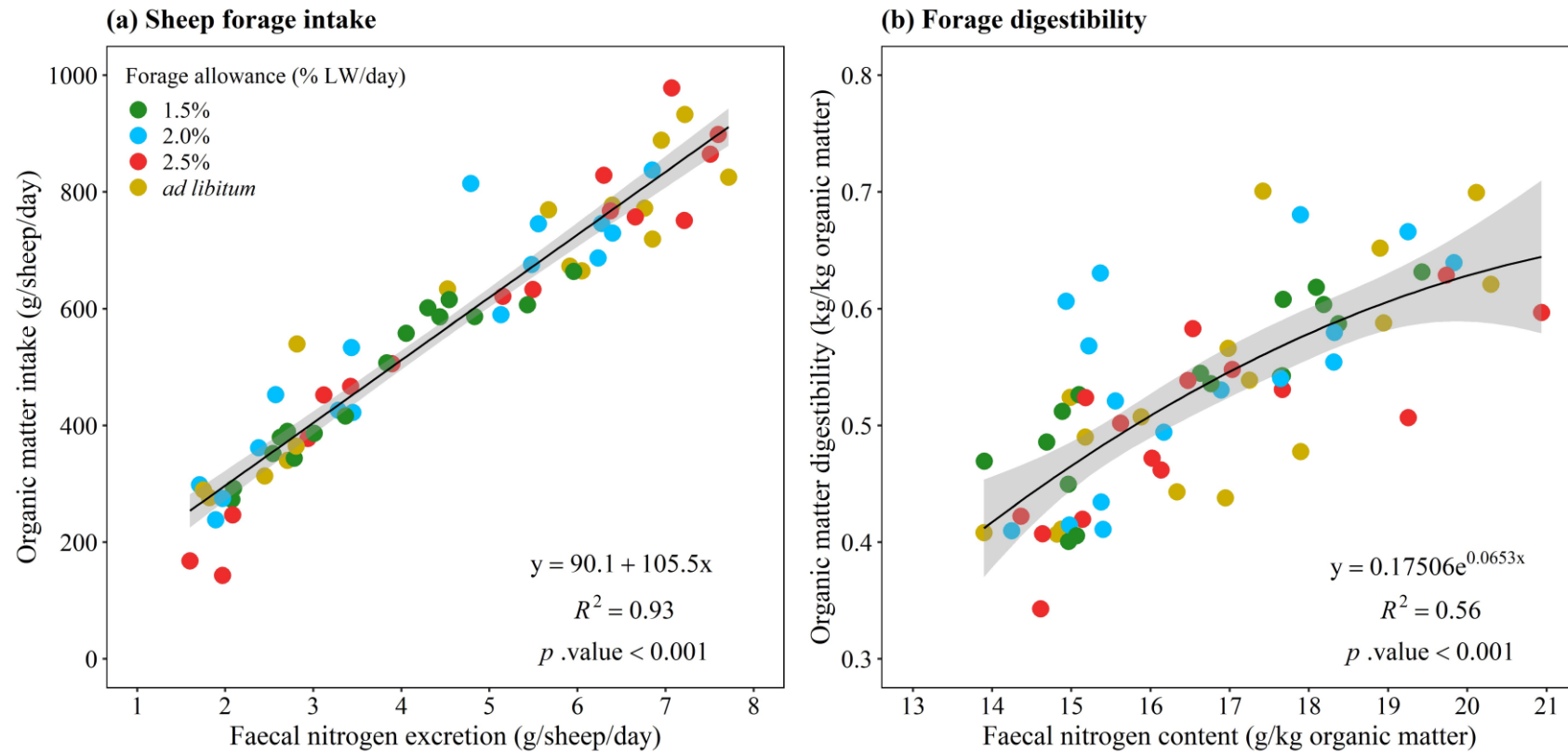
SEM, standard error of the mean; T, probability for treatment (forage allowance); P, probability for the period of the year; T×P, probability for interaction between T and P.

Means followed by different letters within lines and factors, treatment or period, are significantly different at  $p < 0.05$ .

#### **2.5.4. Forage digestibility and intake equations**

Linear and non-linear regression algorithms to predict forage OM intake and digestibility, respectively, in sheep fed the multi-species native grassland are shown in Figure 2. The linear regression equation based on faecal nitrogen excretion (Fne) generated to estimate sheep OM intake [Intake (g OM/sheep/day) =  $90.1 + 105.50 \times \text{Fne}$ ] presented a high confidence of determination ( $R^2 = 0.93$ ). Therefore, the strong relationship between sheep OM intake and Fne ( $p < 0.001$ ) can be seen in Figure 2a.

The non-linear (exponential) regression equation based on faecal nitrogen content (FNc) generated to estimate forage OM digestibility in sheep [Digestibility (kg/kg OM) =  $0.17506e^{0.0653 \times \text{FNc}}$ ] presented a good confidence of determination ( $R^2 = 0.56$ ). Therefore, the relationship between forage OM digestibility and FNc in sheep ( $p < 0.001$ ) can be seen in Figure 2b.



**Figure 2.** Linear relationship between faecal nitrogen excretion (Fne) and organic matter intake (a) and the non-linear (exponential) relationship between faecal nitrogen content (Fnc) and forage organic matter digestibility (b) in sheep fed a multi-species native grassland from the Rio de la Plata region in South America

#### **2.5.5. External validation of the prediction equations**

As proposed by Piñeiro et al. (2008), the regression between observed values based on the external dataset (in the y-axis) and estimated values based on equations presented in this paper (in the x-axis) was performed to validate the forage OM intake and digestibility regression models generated for sheep fed multi-species native grasslands. The Pearson correlation between observed and estimated values of the sheep forage OM intake model was 0.76 ( $p < 0.001$ ) with a coefficient of determination of 0.57 and a root mean squared deviation (RMSD) of 104.9 (g OM/sheep/day). The Pearson correlation between observed and estimated values for the forage OM digestibility model was 0.37 ( $p = 0.038$ ) with a coefficient of determination of 0.14 and a RMSD of 0.06 (kg/kg OM).

### **2.6. Discussion**

This study sought to assess the potential of the faecal N marker for estimating forage OM digestibility and intake by sheep fed a multi-species native grassland from the Rio de la Plata region in South America. Accordingly, we developed non-linear and linear regression equations, and our findings confirm that the faecal N content (FNC) and excretion (FNE) can be used accurately to estimate OM intake and digestibility in sheep, respectively.

#### **2.6.1. Forage intake regression model**

It is not new that there is a strong relationship between forage OM intake and FNE in ruminants (Lancaster, 1949; Peripolli et al., 2011). Some studies have proven that the faecal N marker can be used with different forages and ruminant species. Most researchers have developed models using the faecal N for estimating forage intake for specific forages (Azevedo et al., 2014; De David et al., 2014); however, only a few of

them have performed regression models for multispecies grasslands (Kozloski et al., 2018; Azevedo et al., 2024).

Our linear regression model demonstrated a high correlation ( $R^2 = 0.93$ ) between OM intake and Fne in sheep fed a multi-species native grassland from Uruguay (Figure 1a). The same response was reported for sheep-fed cultivated forages such as Italian ryegrass (Azevedo et al., 2014), pearl millet (De David et al., 2014), mixed tropical and temperate plant species (Peripolli et al., 2011), and for cattle fed native grassland from South Brazil (Azevedo et al., 2023). Also, Kozloski et al. (2018) developed a linear regression model integrating data from cattle and sheep-fed native grassland with high accuracy to estimate OM intake based on Fne.

This OM intake model generated with heterogeneous species diversity and forage structure composition of native grasslands confirms the accuracy of the faecal N marker to be used in grazing conditions for estimating OM intake, which is a challenge in our extensive grassland systems. Other markers, e.g., n-alkanes, have been used to estimate intake at grazing; however, the faecal N marker has some advantages, such as low cost and it is not necessary to know the attributes of the forage, which is extremely complicated in these heterogeneous multispecies grasslands (Kozloski et al. 2018; Savian et al., 2018). Therefore, although it is necessary to estimate faecal production with another marker or by total collection, our sheep OM intake model based on Fne is an important development for pasture research in South America.

To verify the accuracy of this sheep OM intake model, we used another data set with similar sheep fed with the same native grassland in a different year in summer, and our linear regression model validation presented a good correlation between observed and estimated sheep intake ( $p < 0.001$ ), mainly based on the coefficient of determination ( $R^2 = 0.57$ ). Similar accuracy for the intake model validation using the faecal N marker can be found in Kozloski et al. (2013), who worked with wethers fed tropical or temperate forages alone or with supplements in southern Brazil.

### **2.6.2. Forage digestibility regression model**

Some accurate non-linear regression models for predicting OM digestibility were developed using FNc in ruminants fed with different feeds (Boval et al., 2003; Lukas et al., 2005; Wang et al., 2009; Peropilli et al., 2011; Azevedo et al., 2014; De David et al., 2014). In this way, we developed a reasonably accurate ( $R^2 = 0.56$ ) exponential regression model to predict the OM digestibility in sheep-fed multi-species native grassland based on FNc (Figure 2b).

The regression OM digestibility models performed with more than one plant species, as in our model using a multi-species grassland, have been used accurately with exponential regressions (Lukas et al., 2005; Wang et al., 2009; Peripolli et al., 2011). Nevertheless, high-accurate exponential regression models for estimating OM digestibility in sheep and cattle, as proposed by Wang et al. (2009) and Lukas et al. (2005), respectively, were developed with a wider FNc range (~12–50 g N/kg OM), which means that the forages used in that trials had a higher range of OM digestibility, from 0.414 to 0.827 kg/kg OM than ours. The same occurs when a cultivated forage is used to generate OM digestibility models. For example, Azevedo et al. (2014) worked with Italian ryegrass in three phenological stages and generated an accurate hyperbolic model ( $p < 0.001$ ;  $R^2 = 0.77$ ) for estimating forage OM digestibility in sheep based on FNc, which was from 14 to 46 g N/kg OM. Also, Azevedo et al. (2014) proposed a multiple hyperbolic model ( $p < 0.001$ ;  $R^2 = 0.83$ ) for estimating OM digestibility with NFc and faecal ADF content. Therefore, in our case, the FNc range was much narrower, from 14 to 21 g N/kg OM (Figure 2b), and observed OM digestibility, on average, between 0.420 and 0.590 kg/kg OM (Table 3), when compared with the data from the literature that generate high accurate digestibility regression models. In other words, this is the main reason that our OM digestibility exponential regression model had an intermediate reasonable coefficient of determination ( $R^2 = 0.56$ ), and the model validation ( $p < 0.038$ ) has low accuracy ( $R^2 = 0.14$ ).

In our case, the best fit with a non-linear regression model was achieved by the exponential model with FNc. This regression model including only one parameter (FNc), which is very simple and non-expensive to estimate, can be relevant to continue

exploring it in order to develop an equation including a broader situation of sward characteristics in terms of NDF, ADF, and N content, and also data from winter and autumn.

Although the forage nutritive value is different between the seasons, the typical native vegetation from Uruguay has low variability over the year, which means, for example, forage CP values, on average, of 60 g/kg DM, in winter, and 100 g/kg DM, in spring (Orcasberro et al., 2021). We used data from spring and summer and the CP and NDF contents in forage, on average, were between 79 and 88 g/kg DM and, between 626 and 681 g/kg DM, respectively (Table 1). Therefore, with this vegetation type, it is very hard to increase the FNc range and the OM digestibility models should not have strong accuracy. To increase the cattle FNc range and consequently the forage OM digestibility range, Azevedo et al. (2024) used multispecies native grassland overseed with Italian ryegrass, which is a strategy to improve production and nutritive value of forage in the Rio de la Plata region in winter. With this strategy, the authors generated a highly accurate hyperbolic model for estimating OM digestibility in cattle. As our goal was to use only native grasslands, the exponential model for estimating OM digestibility in sheep (Figure 2b) could be considered suitable for the extensive grassland conditions from the Rio de la Plata region in South America.

Finally, we consider that this specific data with sheep-fed native grasslands should be integrated into other data sets that used the faecal N marker with other animal species to generate more comprehensive models for estimating forage intake and digestibility in ruminants for Campos grasslands.

## **2.7. Conclusions**

Our findings highlight that the faecal nitrogen excretion has high accuracy for estimating organic matter intake in sheep fed a multi-species native grassland from the Rio de la Plata region in South America. Furthermore, the faecal nitrogen content can be used accurately to estimate the forage organic matter digestibility in sheep.

## 2.8. Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the assistance of all technical staff of Glencoe Research Station and INIA Tacuarembó, as well as help from Nicolas Feola, Clara Echenagusia, Camila Custodio, Andressa Koch, Ariane Andrades, Ana Carolina Teixeira, Gabriela de Freitas, Emiliano Caravia, Fernanda Rattin, Roman Diaz, Luana Machado, Gracialda Ferreira, Thais Devincenzi, Eduardo Azevedo, Laura Astigarraga, Analía Perez and Veterinary Animal Production Institute during the progress of this study. This study was part of the project entitled “Decision support system for native grasslands management”, financed by the Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Also, this study was supported by a MSc scholarship from the Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria awarded to Ana Inés Tafernaberry.

## 2.9. References

- Andrade, B.O., Marchesi, E., Burkart, S., Setubal, R.B., Lezama, F., Perelman, S., Schneider, A.A., Trevisan, R., Overbeck, G.E., Boldrini, I.I., 2018. Vascular plant species richness and distribution in the Río de la Plata grasslands. *Bot. J. Linn. Soc.* 188, 250–256.
- Andriarimalala, H.J., Dubeux, J.C., Jaramillo, D.M., Rakotozandriny, J.N., Salgado, P., 2021. Using n-alkanes to estimate herbage intake and diet composition of cattle fed with natural forages in Madagascar. *Anim. Feed Sci. Technol.* 273.
- AOAC, 1995. *Official Methods of Analysis*, 15<sup>th</sup> ed. AOAC International, Arlington.
- Azevedo, E.B., Poli, C.H.E.C., David, D.B., Amaral, G.A., Fonseca, L., Carvalho, P.C.F., Fischer, V., Morris, S.T., 2014. Use of faecal components as markers to estimate intake and digestibility of grazing sheep. *Livest. Sci.* 165, 42–50.
- Azevedo, E.B., Rosa, F.Q., Dornelles, R.R., Malaguez, E.G., Da Trindade, J.K., Castagnara, D.D., Bremm, C., Liska, G.R., David, D.B., 2024. Nutritional characteristics estimated by faecal protein in cattle fed with heterogeneous natural grassland. *Anim. Prod. Sci.* 64, na22418.

- Baeza, S., Paruelo, J.M., 2020. Land use/land cover change (2000-2014) in the Rio de la Plata grasslands: An analysis based on MODIS NDVI time series. *Remote Sens.* 12, 1–22.
- Barthram, G.T., 1985. Experimental techniques: the HFRO sward stick, in: *The Hill Farming Research Organization Biennial Report 1984/1985*. HFRO, Penicuik, pp. 29–30.
- Belanche, A., Hristov, A.N., van Lingen, H.J., Denman, S.E., Kebreab, E., Schwarm, A., Kreuzer, M., Niu, M., Eugène, M., Niderkorn, V., Martin, C., Archimède, H., McGee, M., Reynolds, C.K., Crompton, L.A., Bayat, A.R., Yu, Z., Bannink, A., Dijkstra, J., Chaves, A. V., Clark, H., Muetzel, S., Lind, V., Moorby, J.M., Rooke, J.A., Aubry, A., Antezana, W., Wang, M., Hegarty, R., Hutton Oddy, V., Hill, J., Vercoe, P.E., Savian, J.V., Abdalla, A.L., Soltan, Y.A., Gomes Monteiro, A.L., Ku-Vera, J.C., Jaurena, G., Gómez-Bravo, C.A., Mayorga, O.L., Congio, G.F.S., Yáñez-Ruiz, D.R., 2023. Prediction of enteric methane emissions by sheep using an intercontinental database. *J. Clean. Prod.* 384, 135523.
- Boval, M., Archimede, H., Fleury, J., Xande, A., 2003. The ability of faecal nitrogen to predict digestibility for goats and sheep fed with tropical herbage. *J. Agric. Sci.* 140, 443–450.
- Boval, M., Edouard, N., Sauvant, D., 2015. A meta-analysis of nutrient intake, feed efficiency and performance in cattle grazing on tropical grasslands. *Animal* 9, 973–982.
- Carvalho, P.C.F., 2013. Harry Stobbs Memorial Lecture: Can grazing behaviour support innovations in grassland management? *Trop. Grasslands* 1, 137–155.
- Cezimbra, I.M., de Albuquerque Nunes, P.A., de Souza Filho, W., Tischler, M.R., Genro, T.C.M., Bayer, C., Savian, J.V., Bonnet, O.J.F., Soussana, J.F., de Faccio Carvalho, P.C., 2021. Potential of grazing management to improve beef cattle production and mitigate methane emissions in native grasslands of the Pampa biome. *Sci. Total Environ.* 780, 146582.

- Chalar, G., Garcia-Pesenti, P., Silva-Pablo, M., Perdomo, C., Olivero, V., Arocena, R., 2017. Weighting the impacts to stream water quality in small basins devoted to forage crops, dairy and beef cow production. *Limnologica* 65, 76–84.
- Congio, G.F.S., Bannink, A., Mayorga, O.L., Rodrigues, J.P.P., Bougouin, A., Kebreab, E., Silva, R.R., Maurício, R.M., da Silva, S.C., Oliveira, P.P.A., Muñoz, C., Pereira, L.G.R., Gómez, C., Ariza-Nieto, C., Ribeiro-Filho, H.M.N., Castelán-Ortega, O.A., Rosero-Noguera, J.R., Tieri, M.P., Rodrigues, P.H.M., Marcondes, M.I., Astigarraga, L., Abarca, S., Hristov, A.N., 2022. Prediction of enteric methane production and yield in dairy cattle using a Latin America and Caribbean database. *Sci. Total Environ.* 825, 153982.
- Costanza, R., D'Arge, R., De Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R. V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P., Van Den Belt, M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387, 253–260.
- David, D.B., Poli, C.H.E.C., Savian, J.V., Amaral, G.A., Azevedo, E.B., Carvalho, P.C.F., Mcmanus, C.M., 2014. Faecal index to estimate intake and digestibility in grazing sheep. *J. Agric. Sci.* 152, 667–674.
- Dove, H., Mayes, R.W., 2005. Using n-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats. *Small Rumin. Res.* 59, 123–139.
- Dove, H., Mayes, R.W., 1996. Plant Wax Components: A New Approach to Estimating Intake and Diet Composition in Herbivores. *J. Nutr.* 13–26.
- Garrett, K., Beck, M.R., Froehlich, K., Fleming, A., Thompson, B.R., Stevens, D.R., Gregorini, P., 2020. A comparison of methods for estimating forage intake, digestibility, and fecal output in red deer (*Cervus elaphus*). *J. Anim. Sci.* 98, 1–7.
- Gordon, I.J., 1995. Animal-based techniques for grazing ecology research. *Small Rumin. Res.* 16, 203–214.
- Jaurena, M., Durante, M., Devincenzi, T., Savian, J. V., Bendersky, D., Moojen, F.G., Pereira, M., Soca, P., Quadros, F.L.F., Pizzio, R., Nabinger, C., Carvalho, P.C.F., Lattanzi, F.A., 2021. Native Grasslands at the Core: A New Paradigm of

- Intensification for the Campos of Southern South America to Increase Economic and Environmental Sustainability. *Front. Sustain. Food Syst.* 5.
- Kozloski, G.V., Oliveira, L., Poli, C.H.E.C., Azevedo, E.B., David, D.B., Ribeiro Filho, H.M.N., Collet, S.G., 2014. Faecal nitrogen excretion as an approach to estimate forage intake of wethers. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. 1–8.
- Kozloski, G. V., Zilio, E.M.C., Ongarato, F., Kuinchtner, B.C., Saccol, A.G., Genro, T.C.M., Oliveira, L., Faria, B.M., Cezimbra, I.M., Quadros, F.L.F., 2018. Faecal N excretion as an approach for estimating organic matter intake by free-ranging sheep and cattle. *J. Agric. Sci.* 1–7.
- Lancaster, R.J., 1949. Estimation of digestibility of grazed pasture from faeces nitrogen. *Nature* 163, 330–331.
- Langlands, J.P., 1987. Assessing the nutrient status of herbivores, in: Hacker, J.B. and Ternouth, J.H. (Ed.), *The Nutrition of Herbivores*. Academic Press, Sydney, pp. 363–390.
- Lukas, M., Sudekum, K.H., Rave, G., Friedel, K., Susenbeth, A., 2005. Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. *J. Anim. Sci.* 83, 1332–1344.
- Mayes, R.W., Dove, H., 2000. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. *Nutr. Res. Rev.* 13, 107–138.
- Modernel, P., Rossing, W.A.H., Corbeels, M., Dogliotti, S., Picasso, V., Tittonell, P., 2016. Land use change and ecosystem service provision in Pampas and Campos grasslands of southern South America. *Environ. Res. Lett.* 11, 1–22.
- Niu, M., Kebreab, E., Hristov, A.N., Oh, J., Arndt, C., Bannink, A., Bayat, A.R., Brito, A.F., Boland, T., Casper, D., Crompton, L.A., Dijkstra, J., Eugène, M.A., Garnsworthy, P.C., Haque, M.N., Hellwing, A.L.F., Huhtanen, P., Kreuzer, M., Kuhla, B., Lund, P., Madsen, J., Martin, C., McClelland, S.C., McGee, M., Moate, P.J., Muetzel, S., Muñoz, C., O’Kiely, P., Peiren, N., Reynolds, C.K., Schwarm, A., Shingfield, K.J., Storlien, T.M., Weisbjerg, M.R., Yáñez-Ruiz, D.R., Yu, Z., 2018. Prediction of enteric methane production, yield, and intensity in dairy cattle using an intercontinental database. *Glob. Chang. Biol.* 24, 3368–3389.

- NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new worlds camelids. National Academic Press, Washington.
- Orcasberro, M.S., Loza, C., Gere, J., Soca, P., Picasso, V., Astigarraga, L., 2021. Seasonal effect on feed intake and methane emissions of cow–calf systems on native grassland with variable herbage allowance. *Animals* 11, 1–12.
- Penning, P.D., 2004. Animal-based techniques for estimating herbage intake, in: Penning, P.D. (Ed.), *Herbage Intake Handbook*. British Grassland Society, pp. 53–93.
- Penning, P.D., Johnson, R.H., 1983. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake 2. indigestible acid detergent fibre. *J. Agric. Sci.* 100, 133–138.
- Peripolli, V., Prates, Ê.R., Barcellos, J.O.J., Neto, J.B., 2011. Fecal nitrogen to estimate intake and digestibility in grazing ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163, 170–176.
- Piñeiro, G., Perelman, S., Guerschman, J.P., Paruelo, J.M., 2008. How to evaluate models: Observed vs. predicted or predicted vs. observed? *Ecol. Modell.* 216, 316–322.
- Rymer, C., 2000. The measurement of forage digestibility in vivo, in: Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. (Ed.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI, Wallingford, UK, pp. 113–144.
- Salah, N., Sauvant, D., Archimède, H., 2015. Response of growing ruminants to diet in warm climates: A meta-analysis. *Animal* 9, 822–830.
- Savian, J. V., Genro, T.C.M., Neto, A.B., Bremm, C., Azevedo, E.B., David, D.B., Gonda, H.L., Carvalho, P.C.F., 2018. Comparison of faecal crude protein and n-alkanes techniques to estimate herbage intake by grazing sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 242, 144–149.
- ’t Mannetje, L., 2000. Measuring biomass of grassland vegetation, in: ’t Mannetje L. and Jones R.M. (Ed.), *Field and Laboratory Methods for Grassland and Animal Production Research*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 151–178.

- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.* 74.
- Waite, R.B., 1994. The application of visual estimation procedures for monitoring pasture yield and composition in exclosures and small plots. *Trop. Grasslands* 28, 38–42.
- Wang, C.J., Tas, B.M., Glindemann, T., Rave, G., Schmidt, L., Weißbach, F., Susenbeth, A., 2009. Fecal crude protein content as an estimate for the digestibility of forage in grazing sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 149, 199–208.
- Whitlock, H. V., 1948. Some modifications of the McMaster helminth egg-counting technique and apparatus. *J. Counc. Sci. Industrial Res.* 21, 177–180.

### **3. Discusión general y conclusiones globales**

Como principales resultados obtenidos en este trabajo podemos destacar el desarrollo de una ecuación lineal para consumo de forraje en ovinos alimentados con pasturas nativas de Uruguay, compuestos por múltiples especies, la cual demuestra una alta correlación ( $R^2 = 0,93$ ) entre consumo de materia orgánica y excreción de nitrógeno fecal; y el desarrollo de un modelo de regresión exponencial razonablemente preciso ( $R^2 = 0,56$ ) para predecir la digestibilidad de la materia orgánica en pasturas nativas de múltiples especies alimentados con ovejas basado en contenido de nitrógeno de las heces. Ambos modelos fueron validados con otro conjunto de datos con ovinos de similares características y con la misma pastura nativa, de modo de verificar la precisión, la cual, basada en los coeficientes de determinación, presentó una correlación aceptable.

Estos resultados nos permiten plantearnos posibles líneas de trabajo a futuro. Consideramos que estos datos específicos para ovinos alimentados con pasturas nativas pueden integrarse a otros conjuntos de datos que hayan utilizado el N fecal como marcador con otras especies animales para generar modelos globales de estimación de consumo y digestibilidad de forraje en rumiantes para nuestra región en Sudamérica. La perspectiva a futuro que tiene el grupo de trabajo es generar un modelo único, principalmente para consumo, que sea utilizado tanto para ovinos como bovinos, así como para pasturas nativas de la región y, también, de otras regiones del mundo.

Para finalizar, los resultados del presente trabajo experimental permiten concluir que la excreción de nitrógeno fecal tiene una alta precisión para estimar el consumo de materia orgánica en ovejas alimentadas con pasturas nativas que son compuestos por una alta riqueza de especies de la región del Río de la Plata en América del Sur, particularmente en Uruguay. Además, el contenido de nitrógeno fecal puede ser utilizado con precisión para estimar la digestibilidad de la materia orgánica del forraje en ovejas alimentadas con la misma base forrajera. O sea, en el futuro ese modelo de digestibilidad de la materia orgánica puede ser utilizado en situaciones reales de campo

para estimar el valor nutritivo del alimento que está siendo consumido por los animales simplemente por el análisis del contenido de nitrógeno en las heces de los animales.

#### 4. **Bibliografía**

- Andrade, B. O., Marchesi, E., Burkart, S., Setubal, R. B., Lezama, F., Perelman, S., et al. (2018). Vascular plant species richness and distribution in the Río de la Plata grasslands. *Bot. J. Linn. Soc.* 188, 250-256.
- Andriarimalala, H.J., Dubeux, J.C., Jaramillo, D.M., Rakotozandriny, J.N., Salgado, P. (2021). Using n-alkanes to estimate herbage intake and diet composition of cattle fed with natural forages in Madagascar, *Animal Feed Science and Technology*, volume 273.
- Aufere, J. D., Demarquille, C. (1989). Predicting organic matter digestibility of forage by two pepsin cellulase methods. En *Proceedings of the XVI International Grassland Congress*, Nice, France. P. 877-878.
- Azevedo, E.B., Poli, C.H.E.C., David, D.B., Amaral, G.A., Fonseca, L., Carvalho, P.C.F., Fischer, V., Morris, S.T. (2014). Use of faecal components as markers to estimate intake and digestibility of grazing sheep. *Livest. Sci.* 165, 42-50.
- Azevedo, E.B., Rosa, F.Q., Dornelles, R.R., Malaguez, E.G., Da Trindade, J.K., Castagnara, D.D., Bremm, C., Liska, G.R., David, D.B. (2024). Nutritional characteristics estimated by faecal protein in cattle fed with heterogeneous natural grassland. *Anim. Prod. Sci.* 64, AN22418.
- Baeza, S., and Paruelo, J. M. (2020). Land use/land cover change (2000–2014) in the rio de la plata grasslands: an analysis based on MODIS NDVI time series. *Remote Sens.* 12:381.
- Barthiaux-Thill, N., Oger, R. (1986). The indirect estimation of the digestibility in cattle herbage from Belgium permanent pasture. *Grass and Forage Science*, 41, 269-272.
- Baumgardt, B. R. (1972). Consumo voluntario de alimentos. En Hafez, E. S. E. y Dyer, I. A. (eds.). *Desarrollo y nutrición animal*. Zaragoza, Acribia. pp. 1-21.
- Berretta, A. E. (2009). Algunos aspectos sobre la biodiversidad de los campos naturales. *Revista INIA* n.º 20, 22.
- Berretta, E. J., Risso, D. F., Montossi, F., and Pigurina, G. (2000). “Campos in Uruguay,” in *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*, eds G. Lemaire,

- J. Hodgson, A. Moraes, P. C. F. Carvalho, and C. Nabinger (Wallingford-Oxon: CAB Intern), 377-394.
- Boval, M., Archimede, H., Fleury, J., Xande, A. (2003). The ability of faecal nitrogen to predict digestibility for goats and sheep fed with tropical forage. *Journal of Agricultural Science*, v. 140, p. 443-450.
- Boval, M., Edouard, N., Sauvant, D. (2015). A meta-analysis of nutrient intake, feed efficiency and performance in cattle grazing on tropical grasslands. *Animal: an international journal of animal bioscience*. 9. 1-10.
- Boval, M., Peyraud, J. L., Xandé, A., Aumont, G., Coppry, O., y Saminadin, G. (1996). Evaluación d'indicateurs fecaux pour la predicción de la digestibilidad et quantités ingerée de *Dichantium* sp. Par bovins creoles en guadeloupe. *Annales Zootechnique*, 45, 121-134.
- Burns, J. C.; Pond, K. R.; Fisher, D. S. (1991). Effects of grass species on grazing steers: II dry matter intake and digesta kinetics. *Journal of Animals Science*. 69 (3): 1199-1204
- Carvalho, P. C. F., and Batello, C. (2009). Access to land, livestock production and ecosystem conservation in the Brazilian Campos biome: the natural grasslands dilemma. *Livest. Sci*. 120, 158-162.
- Carvalho, P.C.F., Kozloski, G.V., Ribeiro Filho, H.M.N., Reffatti, M.V., Genro, C.M., Euclides, V.P.B. (2007). Avances metodológicos en la determinación del consumo de rumiantes en pastoreo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, p. 51-170.
- Chilibroste, P. (2002). Interacción de patrones de consumo y de oferta de nutrientes para vacas lecheras en pastoreo durante el período otoño-invernal. En *Jornadas Uruguayas de Buiatría* (1998, Paysandú). Memorias. Paysandú, s. e. pp. 90-96.
- Clark, P. W.; Armentano L. E. (1997). Influence of particle size on the effectiveness of beet pulp fiber. *Journal Dairy Science*. 80 (5): 898-904.
- Cochran, R.C., Galyean, M.L. (1994). Measurement of in-vivo forage digestion by ruminants. In *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. G. C. Fahey Jr. (ed.). American Society of Agronomy, Madison, WI. Page 613.

- Coleman, S.W., Moore, J.E. (2003). Feed quality and animal performance. *Field Crops Res.* 84, 17-29.
- Comeron, E. A., & Peyraud, J. L. (1993). Predicción de la digestibilidad del pasto ingerido por vacas lecheras. *Revista Argentina de Producción Animal*, 13, 23-30.
- Corbett, J.L., Freer, M. (2003). Past and present definitions of the energy and protein requirements of ruminants. *Asian-Aust. Journal Animal Science* 16, 609-624.
- Cortelezzi, A., and Mondelli, M. (2014). Censo General Agropecuario 2011: Interpretación de los principales resultados y cambios observados. Montevideo: Anuario OPYPA, 471-490.
- David, D.B., Poli, C.H.E.C., Savian, J.V., Amaral, G.A., Azevedo, E.B., Carvalho, P.C.F., Pimentel, C.M.M. (2014). Índice fecal para estimar la ingesta y digestibilidad en ovejas en pastoreo. *Revista Agriculture Science*, v. 152, pág. 667-674.
- Díaz, A. M. R., Jaurena, A. M., & Ayala, A. P. W. (2008). Impacto de la intensificación productiva sobre el campo natural en Uruguay. *Revista INIA* n.º 14, 16.
- DIEA, Dirección de Estadísticas Agropecuarias. (2020). Anuario Estadístico Agropecuario. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. 270 p.
- Dove, H., Mayes, R.W. (1996). Plant wax components: A new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. *American Journal of Nutrition*, 126, 13-26.
- Dove, H., Mayes, R.W. (2005). Using n-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, volume 59, pages 123-139.
- Dove, H., Milne, J.A., Mayes, R.W. (1990). Comparison of herbage intakes estimated from in vitro or n-alkane based digestibility's. En: *Proceedings New Zeland Society of Animal Production*, 50, 457-459.
- Fahey, G. C. y Yung, H. G. (1983). Lignin as a marker in digestion studies. *Journal of Animal Science*, 57, 220-225.
- Forbes J. M. (1986). *The voluntary food intake of farm animals*. London, Butterworths. 205 p.

- Forbes JM. (2007). Voluntary food intake and diet selection in farm animals. Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Galli, J. R.; Cangiano, C. A.; Fernandez, H. H. (1996). Comportamiento ingestivo y consumo de bovinos en pastoreo. *Revista Argentina de Producción Animal*. 16 (2):119-42.
- Ganzábal, A. (1997). Alimentación de ovinos con pasturas sembradas. Montevideo, INIA. 44 p.
- Garrett, K., Beck, M.R., Froehlich, K., Fleming, A., Thompson, B.R., Stevens, D.R., Gregorini, P. (2020). A comparison of methods for estimating forage intake, digestibility, and fecal output in red deer (*Cervus elaphus*). *Journal of Animal Science*, volume 98.
- Glindemann, T., Tas, B.M., Wang, C., Alvers, S., Susenbeth, A. (2009). Evaluation of titanium dioxide as an inert marker for estimating faecal excretion in grazing sheep, *Animal Feed Science and Technology*, volume 152.
- Goopy, J., Korir, D., Pelster, D., Ali, A., Wassie, S., Schlecht, E., Butterbach-Bahl, K. (2020). Severe below-maintenance feed intake increases methane yield from enteric fermentation in cattle. *British Journal of Nutrition*, 123(11), 1239-1246.
- Gordon, I.J. (1995). Animal-based techniques for grazing ecology research, *Small Ruminant Research*, Volume 16, Pages 203-214.
- Hadgu, G.Z. (2016). Factors Affecting Feed Intake and Its Regulation Mechanisms in Ruminants -A Review. *International Journal of Livestock Research*, 6(4), 19.
- Hodgson, J. (1982). Ingestive behaviour. En Leaver, J. D. ed. *Herbage intake handbook*. Reino Unido, British Grassland Society. pp. 113-139.
- INDEC (2018). Censo Nacional Agropecuario. Available online at: <https://cna2018.indec.gob.ar/>
- Jaurena, M., Durante, M., Devincenzi, T., Savian, JV, Bendersky, D., Moojen, FG, ... & Lattanzi, FA (2021). Los pastizales nativos en el centro: un nuevo paradigma de intensificación de los campos del sur de América del Sur para aumentar la sostenibilidad económica y ambiental. *Fronteras en los sistemas alimentarios sostenibles*, 5, 11.

- Jones, D. I. H. y Hayward, M. V. (1975). The effect of pepsin pre-treatment of herbage on the prediction of the dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solution. *Journal of Food and Agriculture*, 26, 711-718.
- Kozloski, G.V., Oliveira, L., Poli, C.H.E.C., Azevedo, E.B., David, D.B., Ribeiro Filho, H.M.N., Collet, S.G. (2014). Faecal nitrogen excretion as an approach to estimate forage intake of wethers. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. 98, 659-666.
- Kozloski, G.V., Zilio, E.M.C., Ongarato, F., Kuinchtner, B.C., Saccol, A.G., Genro, T.C.M., Oliveira, L., Faria, B.M., Cezimbra, I.M., Quadros, F.L.F. (2018). Faecal N excretion as an approach for estimating organic matter intake by free-ranging sheep and cattle. *J. Agric. Sci.* 1-7.
- Lancaster, R.J. (1949). The measurement of feed intake by grazing cattle and sheep. I. A method of calculating the digestibility of pasture based on the nitrogen content of feces derived from the pasture. *New Zealand J. Sci. Technol.* 31, 31-38.
- Langlands, J.P. (1987). Assessing the nutrient status of ruminants. En J B Hacker and J H Ternouht eds. *The nutrition of herbivores*. Academic Press, Sydney, Australia. Pp. 363-390.
- Le Du, Y. L., Penning, P. D. (1982). Animal based techniques for estimating herbage intake. En J. D. Leaver ed. *Herbage Intake Handbook*, Reading, UK: The British Grassland Society, pp 37-76.
- Lukas, M., Südekum, K.H., Rave, G., Friedel, K., Susenbeth, A. (2005). Relación entre la concentración de proteína cruda fecal y la digestibilidad de la materia orgánica de la dieta en el ganado. *Revista de ciencia animal*, v. 83, pág. 1332-1344.
- Mayes, R.W., Dove, H. (2000). Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. *Nutr Res Rev.* 13(1):107-38.
- Mertens, D.R. (1994). Regulation of forage intake. En Fahey, G.C. (ed.), *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, pp. 450-493.
- Orcasberro, R.; Fernández, S. (1988). *Nutrición de los ovinos en pastoreo*. Paysandú, Facultad de Agronomía. p. 1.

- Overbeck, G. E., Müller, S. C., Fidelis, A., Pfadenhauer, J., Pillar, V. D., Blanco, C. C., et al. (2007). Brazil's neglected biome: the South Brazilian Campos. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 9, 101-116.
- Owens, FN y Hanson, CF. (1992). Marcadores externos e internos para evaluar el sitio y el alcance de la digestión en rumiantes. *Revista de ciencia láctea*, 75 (9), 2605-2617.
- Penning, P.D. (2004). Animal-based techniques for estimating herbage intake. In: Penning, P.D. (Ed.), *Herbage Intake Handbook*. British Grassland Society, pp. 53 - 93.
- Peripolli, V., Prates, Ê.R., Barcellos, J.O.J., Neto, J.B. (2011). Fecal nitrogen to estimate intake and digestibility in grazing ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163, 170-176.
- Peyraud, J. L. (1996). Techniques for measuring herbage intake of grazing ruminants: A review. En: E Spornley, E Burstedt y M Murphy eds. *Managing high yielding cows at pasture*. Report no 243, Swedish University of Agricultural Science, Uppsala, Sweden.
- Poppi, D. P.; Hughes, T. P.; L'huillier, P. J. (1987). Intake of pastures by grazing ruminants. En Nicol, A. M. ed. *Feeding livestock on pastures*. New Zealand, Animal Production. pp. 55-63 (Occasional publication no. 10).
- Poppi, D.P., France, J., McLennan, S.R. (1999). Intake, Passage and Digestibility. In: Theodorou, M.K., France, J. *Feeding systems and feed evaluation models*. New York: CABI, p. 35-52.
- Pulina, G., Avondo, M., Molle, G., Francesconi, AHD, Atzori, AS y Cannas, A. (2013). Modelos para estimar el consumo de alimento en pequeños rumiantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42 (9), 675-690.
- Rodriguez, N., Oliveira Simoes Saliba, E., Guimaraes-Junior, R. (2007). Uso de indicadores para estimar consumo y digestibilidad de pasto. LIPE, lignina purificada y enriquecida. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20:4, 518-525.

- Romney D. L.; Gill M. (2000). Intake of forages. In: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford. R. F. E.; Omed, H. M (eds.). Forage evaluation in ruminant. Wallingford, CABI. pp. 43-62.
- Salah N., Sauviant, D., Archimede, H. (2015). Response of growing ruminants to diet in warm climates: A meta-analysis. *Animal: an international journal of animal bioscience*. 9. 1-9.
- Savian, J.V., Genro, T.C.M., Neto, A.B., Brem, C., Azevedo, E.B., David, D. B., Gonda, H.L., Carvalho, P.C.F. (2018). Comparison of faecal crude protein and n-alkanes techniques to estimate herbage intake by grazing sheep. *Animal Feed Science and Technology*, v. 242, p. 144-149.
- Soriano, A. (1992). Río de la Plata Grassland. In Coupland RT, ed. *Ecosystems of the world*. Amsterdam: Elsevier, 367-405.
- Thomas, S., Campling. (1976). Relationships between digestibility and faecal nitrogen in sheep and cows offered herbage *ad libitum*. *Journal of the British Grassland Society*, 31, 69-72.
- Tilley, J. M., Terry, R. A. (1963). A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18, 104-111.
- Titgemeyer E.C. (2001). Design and interpretation of nutrient digestions studies. *J Animal Science*; 75: 2235-2247.
- Torell, D.T. (1954). An oesophageal fistula for animal nutrition studies. *Journal of Animal Science*, 13, 878-884.
- Trindade, J. P. P., Rocha, D. S., and Volk, L. B. S. (2018). *Uso da terra no Rio Grande do Sul: ano 2017*. Bagé: Embrapa Pecuária Sul.
- Viglizzo, E. F., and Frank, F. C. (2006). Land-use options for Del Plata Basin in South America: tradeoffs analysis based on ecosystem service provision. *Ecol. Econ.* 57, 140-151.
- Waldo, D. R. (1986). Effect of forage quality on intake and forage-concentrate interactions. *Journal of Dairy Science*. 69: 617-631.
- Wang, C.J., Tas, B.M., Glindemann, T., Rave, G., Schmidt, L., Weißbach, F., Susenbeth, A. (2009). Faecal crude protein content as an estimate for the

digestibility of forage in grazing sheep. *Animal Feed Science and Technology*, v 149, p. 199-208.

Weyland, F., Barral, M. P., Laterra, P. (2017). Assessing the relationship between ecosystem functions and services: Importance of local ecological conditions. *Ecol. Indic.* 81, 201-213.

WRI. World Resource Institute. 2000. Disponible en: [http://pdf.wri.org/wr2000\\_summary.pdf](http://pdf.wri.org/wr2000_summary.pdf)

Zubieta Á.S., Savian J.V., de Souza Filho W., Wallau M.O., Gómez A.M., Bindelle J., Bonnet O.J.F., de Faccio Carvalho P.C. (2021). Does grazing management provide opportunities to mitigate methane emissions by ruminants in pastoral ecosystems? *Science of the Total Environment* 754.

## 5. Anexos

### 5.1. Resumen publicado en los anales de la Asociación Uruguaya de Producción animal (AUPA).

*Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* (ISSN-L 1022-1301) Vol 29, Supl. 1. 2021.

#### **Uso del nitrógeno fecal como marcador para estimar consumo de forraje en ovinos alimentados con campo natural**

Ana Inés Tafernaberry<sup>1\*</sup>, Jean Víctor Savian<sup>1</sup>, Julcemar Dias Kessler<sup>2</sup>, Gabriel Ciappesoni<sup>1</sup>, Martin Jaurena<sup>1</sup>, Gonzalo Fernandez-Turren<sup>3</sup>, Ignacio De Barbieri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Uruguay, <sup>2</sup>Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Brasil, <sup>3</sup>Instituto de Producción Animal (IPAV), Facultad de Veterinaria, San José, Uruguay. [\\*atafernaberry@inia.org.uy](mailto:atafernaberry@inia.org.uy)

En varias regiones del mundo, los campos naturales son el principal alimento para los rumiantes debido a su extensión y distribución geográfica. Los pastizales de la región del Río de la Plata se caracterizan por ser uno de los más grandes del mundo, por tanto, la producción ganadera de la región se desarrolla en su extensa mayoría sobre condiciones de pastoreo, siendo un desafío la estimación del consumo de forraje y por consecuente las estrategias de manejo de dichos ecosistemas pastoriles. El objetivo del presente estudio fue generar una ecuación, basada en nitrógeno fecal (Nf), para estimar el consumo de materia orgánica (CMO) por ovinos alimentados exclusivamente con forraje de campo natural. Los procedimientos animales fueron aprobados por el Comité de Ética (INIA 2019.10). En un diseño completamente al azar, 16 borregos Corriedale con promedio de 44,4 kg de peso vivo (PV) fueron alojados en jaulas metabólicas y distribuidos a cuatro tratamientos, tres niveles de oferta de forraje (15, 20, 25 g de materia seca/kg PV) y un tratamiento *ad libitum*. Durante la primavera de

2019 y el verano de 2020, se realizaron cuatro períodos de medición, con cinco días de acostumbramiento a la jaula metabólica, diez días de acostumbramiento al tratamiento y cinco días de mediciones. El forraje fue cortado una vez al día, ofreciéndose el mismo fresco en dos momentos del día (8 y 17 h). Las mediciones realizadas fueron: consumo de materia seca (diferencia ofrecido-rechazo), excreción total de heces, composición química de heces y alimento. Se generó una ecuación de regresión lineal para predecir el CMO en función de la excreción de Nf (g/d). La ecuación generada fue:  $CMO = 90,10 + Nf \times 105,4$ ;  $R^2 = 0,93$ . Estos resultados preliminares confirman que el Nf es un marcador adecuado para predecir el CMO de ovinos alimentados con campo natural.

Palabras claves: consumo de alimento; excreción de nitrógeno; campo natural

## 5.2. Póster presentado en la AUPA



### USO DEL NITRÓGENO FECAL COMO MARCADOR PARA ESTIMAR CONSUMO DE FORRAJE EN OVINOS ALIMENTADOS CON CAMPO NATURAL

Tafernaberry AI, Savian JV, Dias Kessler J, Ciappesoni G, Jaurena M, Fernández-Turren G, De Barbieri I

E-mail: [atafernaberry@inia.org.uy](mailto:atafernaberry@inia.org.uy)

#### INTRODUCCIÓN

- Campos naturales principal alimento para rumiantes en varias regiones del mundo.
- Pastizales del Río de la Plata uno de los más grandes del mundo, producción ganadera se desarrolla en su extensa mayoría sobre condiciones de pastoreo.
- Desafío estimar consumo de forraje.

#### ❖ OBJETIVO

Generar una ecuación basada en nitrógeno fecal (Nf), para estimar consumo de materia orgánica (CMO) por ovinos alimentados exclusivamente con forraje de campo natural.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

- 16 borregos Corriedale (44,4 kg peso vivo (PV)) fueron alojados en jaulas metabólicas y distribuidos en 4 tratamientos: 15, 20, 25 g materia seca (MS) / kg PV y *ad libitum*.
- Diseño completamente al azar.
- Período: primavera 2019, verano 2020 (4 periodos).
- Forraje: cortado 1 vez/día, ofrecido en fresco en 2 momentos al día (8 y 17h).
- Mediciones realizadas: consumo MS (ofrecido – rechazo), excreción total de heces, composición química de heces y alimento.
- 64 datos (16 animales × 4 periodos).



#### RESULTADOS

- Ecuación de regresión lineal para predecir CMO en función de la excreción de Nf (g/d)
  - $CMO = 85,93 + Nf \times 106,70; R^2 = 0,93$

#### CONCLUSIONES

- Resultados preliminares confirman que el Nf es un marcador adecuado para predecir el CMO de ovinos alimentados con campo natural.



### 5.3. Modelos considerados para estimación de consumo de forraje

#### 5.3.1 Modelos lineales que consideran excreción total de nitrógeno y concentración de FDN o FDA para estimar consumo de materia orgánica

##### Cuadro 3

*Tres modelos generados para la estimación del consumo de materia orgánica del forraje, utilizando la excreción total de nitrógeno en heces.*

| Modelo | R <sup>2</sup> | Parametro  | Estimado | Estandar  | t Value | Pr >  t |
|--------|----------------|------------|----------|-----------|---------|---------|
| 1      | 0,933          | Intercepto | 90,1     | 17,589868 | 5,12    | <0,0001 |
|        |                | N fecal    | 105,5    | 3,6394529 | 28,98   | <0,0001 |
| 2      | 0,935          | Intercepto | -142,5   | 191,30992 | -0,74   | 0,4593  |
|        |                | N fecal    | 105,8    | 3,6372261 | 29,1    | <0,0001 |
|        |                | [FDN]      | 3,6      | 2,9677315 | 1,22    | 0,227   |
| 3      | 0,947          | Intercepto | -549,9   | 165,8212  | -3,32   | 0,0016  |
|        |                | N fecal    | 95,0     | 4,2428926 | 22,39   | <0,0001 |
|        |                | [FDA]      | 13,6     | 3,5055376 | 3,88    | 0,0003  |

*Nota.* N fecal en gramos por día. Concentración (FDA, FDN) en porcentaje de la materia seca. Modelo 1 es el seleccionado por su sencillez y presentado en el cuerpo de la tesis. Los modelos 2 y 3 mejoran levemente el R<sup>2</sup> e incorporan la necesidad una determinación adicional en el laboratorio.

### 5.3.2 Modelos lineales que consideran sólo la concentración de nitrógeno, FDN o FDA para estimar consumo de materia orgánica

**Cuadro 4**

*Tres modelos generados para la estimación del consumo de materia orgánica del forraje, utilizando la concentración de nitrógeno en heces.*

| Modelo | R <sup>2</sup> | Parametro  | Estimado   | Estandar  | t Value | Pr >  t |
|--------|----------------|------------|------------|-----------|---------|---------|
| 1      | 0,470          | Intercepto | 1961,2858  | 193,25292 | 10,15   | <0,0001 |
|        |                | [N]        | -1083,7572 | 148,65354 | -7,29   | <0,0001 |
| 2      | 0,473          | Intercepto | 2309,8701  | 576,18842 | 4,01    | 0,0002  |
|        |                | [N]        | -1086,6772 | 149,45529 | -7,27   | <0,0001 |
|        |                | [FDN]      | -5,409633  | 8,4185721 | -0,64   | 0,523   |
| 3      | 0,569          | Intercepto | -667,15663 | 735,94157 | -0,91   | 0,3683  |
|        |                | [N]        | -598,7892  | 188,85774 | -3,17   | 0,0024  |
|        |                | [FDA]      | 39,619568  | 10,772096 | 3,68    | 0,0005  |

*Nota.* [N], [FDN] [FDA] concentración de nitrógeno, FDN o FDA en porcentaje

### 5.4. Modelos considerados para estimación de digestibilidad de la materia orgánica de forraje basados en la concentración de nitrógeno en heces

#### Modelo lineal

Digestibilidad MO = -0,0758 + [N] × 0,036

R<sup>2</sup> = 0,574

AIC = -354,660

**Cuadro 5**

*Parámetros del modelo lineal.*

| Lineal       | Estimado | Error estándar | 95 % intervalo de confianza |        |
|--------------|----------|----------------|-----------------------------|--------|
| Intercepto   | -0,0758  | 0,0671         | -0,2100                     | 0,0584 |
| Coefficiente | 0,0360   | 0,0040         | 0,0280                      | 0,0440 |

### **Modelo exponencial (seleccionado y presentado en el cuerpo de la tesis)**

$$\text{Digestibilidad MO} = 0,175065 \times (\text{EXP}(-0,0653 \times [N] \times -1))$$

$$R^2 = 0,562$$

$$\text{AIC} = -352,948$$

#### **Cuadro 6**

*Parámetros del modelo exponencial.*

| Lineal     | Estimado | Error estándar | 95 % intervalo de confianza |         |
|------------|----------|----------------|-----------------------------|---------|
| Intercepto | 0,1751   | 0,0223         | 0,1305                      | 0,2196  |
| Coficiente | -0,0653  | 0,00738        | -0,0801                     | -0,0506 |

### **Modelo cuadrático**

$$\text{Digestibilidad MO} = \text{RAÍZ} (0,1007) - (-0,0243 \times [N])$$

$$R^2 = 0,569$$

$$\text{AIC} = -353,881$$

#### **Cuadro 7**

*Parámetros del modelo cuadrático.*

| Lineal     | Estimado | Error estándar | 95 % intervalo de confianza |         |
|------------|----------|----------------|-----------------------------|---------|
| Intercepto | 0,1007   | 0,0293         | 0,042                       | 0,1594  |
| Coficiente | -0,0243  | 0,00272        | -0,0297                     | -0,0189 |

### **Modelo exponencial con FDN**

$$\text{Digestibilidad MO} =$$

$$0,0631 \times (\text{EXP}(-0,0627 \times [N] \times -1)) \times (\text{EXP}(-0,00129 \times [\text{FDN}] \times -1))$$

#### **Cuadro 8**

*Parámetros del modelo exponencial.*

| Lineal     | Estimado | Error estándar | 95% intervalo de confianza |         |
|------------|----------|----------------|----------------------------|---------|
| Intercepto | 0,0631   | 0,0213         | 0,0205                     | 0,1056  |
| Coficiente | -0,0627  | 0,0070         | -0,0766                    | -0,0488 |
| Coficiente | -0,0013  | 0,0004         | -0,0021                    | -0,0005 |

## 5.5. Detalle de la validación de las ecuaciones generadas para estimación de consumo y digestibilidad de la materia orgánica

### 5.5.1 Consumo de materia orgánica

La validación se realizó como se mencionó: con la regresión entre el dato observado y predicho de un set de datos que no participó en la generación de las ecuaciones. Los parámetros estimados para esa regresión se presentan a continuación.

**Cuadro 9**

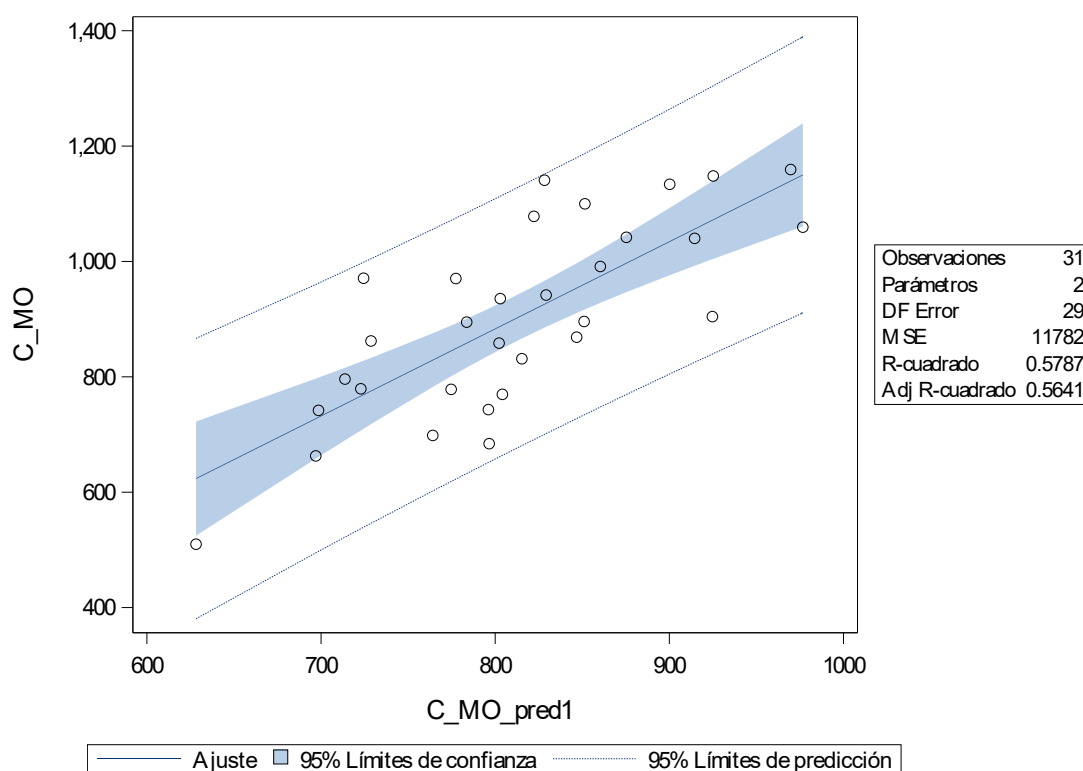
*Parámetros de la regresión de consumo.*

| Variable         | DF | Parámetros | s. e.     | t valor | Pr >  t |
|------------------|----|------------|-----------|---------|---------|
| Intercepto       | 1  | -325,47133 | 195,62327 | -1,66   | 0,1069  |
| Consumo predicho | 1  | 1,51076    | 0,23939   | 6,31    | <0,0001 |

*Nota.* O sea: consumo observado =  $-325,5 + 1,5 \times$  consumo predicho

**Figura 3**

*Asociación entre el consumo de materia orgánica observado y predicho con la ecuación desarrollada en un set de datos de validación.*



**Cuadro 10**

*Parámetros del modelo del estudio de la regresión de consumo.*

|                          |           |                   |        |
|--------------------------|-----------|-------------------|--------|
| <b>Raíz MSE</b>          | 108,54376 | <b>R-cuadrado</b> | 0,5787 |
| <b>Media dependiente</b> | 902,93555 | <b>R-Sq Ajust</b> | 0,5641 |
| <b>Coef Var</b>          | 12,02121  |                   |        |

### 5.5.2 Digestibilidad de materia orgánica

Para la digestibilidad se utilizó la misma metodología que en consumo. Los parámetros estimados para la regresión entre digestibilidad observada y predicha se presentan a continuación.

**Cuadro 11**

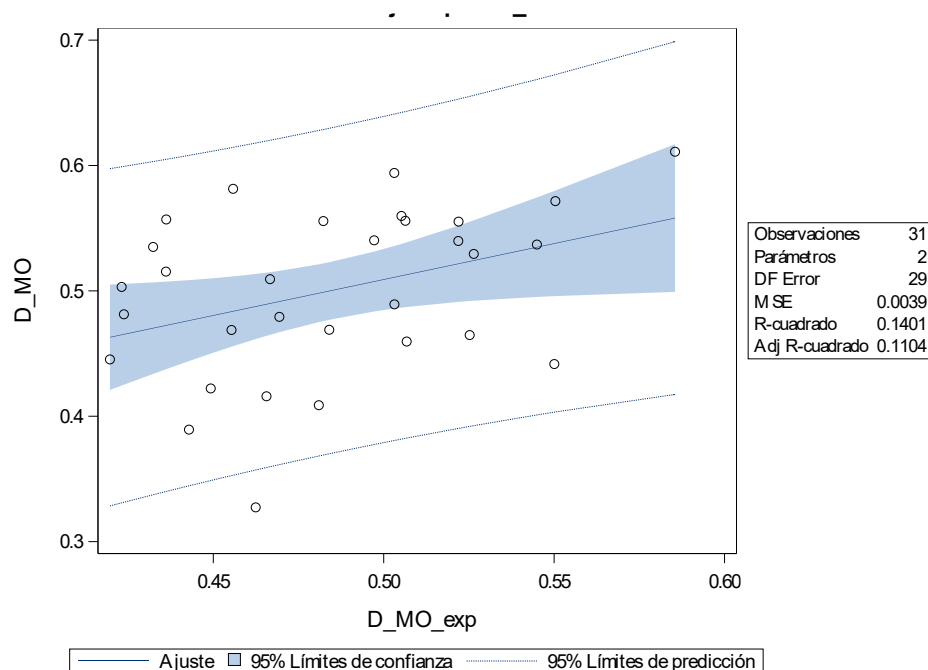
*Parámetros de la regresión de digestibilidad.*

| <b>Variable</b>  | <b>DF</b> | <b>Parámetros</b> | <b>s.e.</b> | <b>t valor</b> | <b>Pr &gt;  t </b> |
|------------------|-----------|-------------------|-------------|----------------|--------------------|
| Intercepto       | 1         | 0,22234           | 0,12845     | 1,73           | 0,0941             |
| Consumo predicho | 1         | 0,57343           | 0,26384     | 2,17           | 0,0381             |

*Nota.* O sea: digestibilidad observada =  $0,222 + 0,573 \times$  digestibilidad predicha

**Figura 4**

*Asociación entre la digestibilidad observada y predicha de la materia orgánica.*



### **Cuadro 12**

*Parámetros del modelo del estudio de la regresión de digestibilidad.*

|                          |          |                   |        |
|--------------------------|----------|-------------------|--------|
| <b>Raíz MSE</b>          | 0,0625   | <b>R-cuadrado</b> | 0,1401 |
| <b>Media dependiente</b> | 0,50043  | <b>R-Sq Ajust</b> | 0,1104 |
| <b>Coef Var</b>          | 12,48321 |                   |        |

### **5.6. Imágenes del lugar experimental**

#### **Figura 5**

*Panorámica del galpón de estudios de metabolismo.*



**Figura 6**

*Imagen de las jaulas metabólicas con los animales, cestos de ofrecido (cesto gris) y rechazo (cesto rosado) de forraje, baldes de colecta (turquesa y azul) para limpieza, balde de agua (verde) y comederos (acero galvanizado gris).*



**Figura 7**

*Visualización del detalle de una jaula metabólica.*



**Figura 8**

*Determinación de emisión de metano de los animales (información no incluida en este trabajo de tesis).*



**Figura 9**

*Determinación de oferta de forraje (base fresca) (arriba) y colecta de todas las heces excretadas en base diaria (abajo).*



