

Degradabilidad *in sacco* de *Festuca arundinacea* (Poaceae) en ovejas (*Ovis aries*) y llamas (*Lama glama*)

Fernández Pepi, María G.^{1,2}; Abimael Ortiz Chura^{2,3};
Alejandro F. Zucol^{2,4}; Gustavo Jaurena¹

¹ Cátedra de Nutrición Animal. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453 (C1417DSE). Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

³ Instituto de Patobiología, INTA Castelar. Buenos Aires, Argentina.

⁴ Laboratorio de Paleobotánica, CICYTTP-Diamante (CONICET) Materi y España S/N, Diamante, Entre Ríos, Argentina.

► **Resumen** — Fernández Pepi, María G.; Abimael Ortiz Chura; Alejandro F. Zucol; Gustavo Jaurena. 2016. "Degradabilidad *in sacco* de *Festuca arundinacea* (Poaceae) en ovejas (*Ovis aries*) y llamas (*Lama glama*)". *Lilloa* 53 (2). La degradabilidad del forraje está asociada a la composición química de la pared celular, la lignificación de los distintos tejidos (característico para cada especie) y de la accesibilidad de los microorganismos del rumen a esos polisacáridos. En este trabajo se evaluó en forma comparativa la degradación de los tejidos de lámina y vaina foliar de *Festuca arundinacea*, en el rumen de camélidos y ovinos. Se tomaron muestras de láminas y vainas, las cuales fueron sometidas a distintos tiempos de degradación mediante el método *in sacco*. La degradación ruminal no fue diferente entre las especies (llamas y ovejas, $p > 0,05$). La anatomía de la lámina y la vaina influyeron en la degradación diferencial de los tejidos, aunque sólo se encontraron diferencias significativas para el tejido esclerenquimático y tejido xilemático de ambas fracciones a las 24 hs de incubación. A las 48 de incubación en el rumen, sólo se encontraron restos de tejido no digerible, correspondientes al sistema vascular. La accesibilidad a los carbohidratos estructurales de la pared celular por los microorganismos ruminales está determinada por la disposición de los elementos de cada tipo de tejido y por la composición química de la pared.

Palabras clave: Evaluación; Lámina; Rumiantes; Tejidos; Vaina.

► **Abstract** — Fernández Pepi, María G.; Abimael Ortiz Chura; Alejandro F. Zucol; Gustavo Jaurena. 2016. "Degradability *in sacco* of *Festuca arundinacea* (Poaceae) in sheep (*Ovis aries*) and llamas (*Lama glama*)". *Lilloa* 53 (2). The degradability of forage is associated to the chemical composition of the cell wall lignification of tissues (characteristic for each species) and accessibility of rumen microorganisms to these polysaccharides. This paper studied comparatively tissue degradation of *Festuca arundinacea* blade and sheath in camelids and sheep rumen, in order to assess the greater efficiency of camelids to degrade fiber were made. Sheets and sheaths samples were taken, which were subjected to different ruminal incubation times to measure the degradation of different tissues, by the *in sacco* method. No differences between the ability of ruminal degradation of llama and sheep were found ($p > 0,05$). The anatomy of the blade and the sheath influenced the differential tissue degradation, although only significant differences for sclerenchyma and xylem of both fractions at 24 h of incubation were found. At 48 h rumen incubation, only they remain of nondigestible tissues, for the vascular system was found. Accessibility to structural carbohydrates of the cell wall by rumen microorganisms is determined by the arrangement of the elements of each tissue type and by the chemical composition of the wall.

Keywords: Evaluation; Ruminants; Sheath; Sheet; Tissues.

INTRODUCCIÓN

Los caracteres anatómicos de las especies utilizadas como forrajeras se ven afectados de manera diferente frente a la acción de los organismos del rumen y por lo tanto influyen en el proceso de digestión y al determinar el valor nutritivo de la especie vegetal en cuestión (Akin, 1984).

Los procesos digestivos del rumen han sido estudiados aplicando diferentes metodologías y enfoques (Sauvan y Ramangasoavina, 1991), tales como métodos *in vivo*, *in sacco* e *in vitro* involucrando caracterizaciones cuantitativas (digestibilidad, degradabilidad) y cualitativas (descripciones microhistológicas).

La digestibilidad es el resultado de la interacción entre el animal y el alimento bajo ciertas condiciones. Está determinada por factores de la planta, tales como el genotipo, el ambiente y el estado fenológico (madurez), así también como por factores anatómicos, morfológicos y bioquímicos. La composición y la susceptibilidad de la pared celular a la digestión por los microorganismos del rumen esta determinada por la extensión de la lignificación, la presencia de compuestos orgánicos tóxicos y las características estructurales de la pared (Van Soest, 1994). Usualmente, la disminución de la digestibilidad de los forrajes está asociada al incremento de la pared celular, por crecimiento de la misma (aumentando los elementos estructurales), y de la lignificación de los tejidos a medida que maduran (Chesson, 1993; Jung *et al.*, 1996; Wilson y Hatfield, 1997).

Los tejidos vegetales se pueden clasificar en rápidamente digeribles (Parénquima del mesofilo, floema), lentamente digeribles (epidermis) y no digeribles (xilema, esclerénquima), características que obedecen, entre otros factores, a la naturaleza química de la pared celular, el grado de lignificación de los tejidos (según el estado fenológico), lo que determina un mayor o menor valor forrajero de la especie (Hana *et al.*, 1973; Ehlke y Casler, 1985; Tivano *et al.*, 1990; Wilson, 1993; Tivano y Heinzen 1996; Feijoo y Arriaga, 2012; Arriaga *et al.*, 2013).

Además de las características intrínsecas de las especies forrajeras, hay otros factores que influyen en la digestibilidad de los tejidos vegetales, como ser el tipo y propiedades del aparato digestivo del animal que lo consume (Bianco *et al.*, 2004), determinando así la eficiencia con la que se aprovechan los nutrientes del alimento ingerido.

Es conocido que los camélidos sudamericanos difieren de los ovinos en la estructura y funcionamiento de su sistema digestivo, y en sus estrategias nutricionales (Vallenas *et al.*, 1971; Engelhardt *et al.*, 1988; San Martín y Bryant, 1989; Jouany *et al.*, 1995). Existen relativamente, escasos trabajos de comparación entre especies, pero la mayoría de los estudios comparativos han demostrado que los CSAs digieren de manera más eficiente los forrajes fibrosos (de mayor contenido de carbohidratos estructurales y lignina en las paredes celulares) en relación a los ovinos. Se ha especulado que esta eficiencia estaría asociada al mayor tiempo de retención de la ingesta en los compartimentos pre-gástricos, mayor capacidad de amortiguar el pH pre-gástrico y a un mayor número de contracciones de los mismos (San Martín y Bryant, 1989; Dulphy *et al.*, 1997; Raggi y Ferrando, 1998).

Festuca arundinacea Schreb (*festuca alta*) es una especie gramínea perenne utilizada como forrajera, con buena adaptación a suelos de baja aptitud agrícola. Esta especie disminuye su calidad nutritiva en primavera avanzada y verano (Burns, 2009), debido a la pérdida de digestibilidad de la fibra detergente neutro (DFDN) con el incremento del largo foliar (Groot y Neuteboom, 1997; Duru y Ducroq, 2002; Agnusdei *et al.*, 2011; Insua *et al.*, 2012; Di Marco *et al.*, 2013).

El objetivo de este trabajo fue evaluar en forma comparativa la capacidad de degradación del licor ruminal de las llamas con respecto al de las ovejas sobre los tejidos de la lámina y la vaina en hojas de *Festuca arundinacea* a 4 tiempos diferentes de incubación ruminal.

MATERIALES Y MÉTODOS

DEGRADABILIDAD IN SACCO

Se utilizaron dos llamas y tres ovejas, de 76.5 ± 0.7 y 68.2 ± 9.2 kg de peso vivo, respectivamente, provistas de cánulas ruminales permanentes, y se alimentaron a voluntad con una dieta de heno de *Festuca arundinacea* (festuca alta). Los animales, previo a la fase experimental fueron acostumbrados por 21 días a las instalaciones, manejo y al forraje de baja calidad.

Para el análisis microhistológico de degradación, se tomaron las láminas y vainas de las hojas *F. arundinacea*, provenientes del heno antes mencionado, las cuales fueron separadas en forma manual. Las vainas y láminas fueron cortadas en fracciones de 2 cm de longitud aproximadamente y se incubaron *in sacco* (en bolsas de 5x10 cm), no menos de 6 trozos de material por bolsa durante 0, 12, 24 y 48 hs. Al finalizar el período de permanencia en el rumen, el material vegetal residual fue enjuagado y fijado en Formol-ácido acético-alcohol etílico (FAA) para realizar los transcortes y evaluar el grado de degradación de cada tipo de tejido (Feijóo y Arriaga, 2012; Arriaga *et al.*, 2013).

ANÁLISIS ANATÓMICO CUANTITATIVO

Se efectuaron cortes transversales a mano alzada en la zona media de la lámina y la vaina, de las muestras sin digerir y las digeridas, para la observación a microscopio óptico y posterior medición. Los tejidos observados se clasificaron en: Tejidos rápidamente digeribles (TRD, > 60% desaparecido), Tejidos lentamente digeribles (TLD, entre 10-60% desaparecido) y Tejidos no digeribles (TND, con < 10 % desaparecido) (Feijóo y Arriaga, 2012; Arriaga *et al.*, 2013). De acuerdo con los resultados obtenidos, los tejidos fueron agrupados según su velocidad de digestión (Hanna *et al.*, 1973; Ehlke y Casler, 1985). Las imágenes de los cortes se documentaron mediante fotomicrografías tomadas con el microscopio Arcano provisto

de cámara fotográfica Panasonic DMC-LS85. Las estimaciones se realizaron sobre cinco transcortes de cada tiempo, sobre los que se calcularon los porcentajes de tejidos digeridos. Las mediciones se realizaron con el programa Image Tool 3.00 (UTHSCSA, 2000), como porcentaje del total de tejidos en sección transversal (Ferrés Terra, 1982). Se calculó la proporción ocupada por los espacios degradados en el área total y se presentaron los porcentajes promedio de los tejidos no degradados.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los resultados fueron analizados con análisis de varianza de acuerdo a un arreglo factorial de especie animal, fracción de la hoja (lámina y hoja) y tiempo de incubación (12 y 24 hs de incubación), mediante el programa estadístico SAS. El modelo empleado fue:

$$Yijk = Animal + Fracción + Tiempo + Fracción \times Tiempo + Error$$

Animal: oveja o llama; *Fracción*: lámina o vaina; *Fracción X Tiempo*: interacción; *Error*: residual del modelo.

Las proporciones de los tejidos en el material original (tiempo= 0) fueron analizadas con un modelo análogo sin considerar el factor tiempo y sus interacciones. Las diferencias entre tratamientos fueron declaradas como significativas cuando $P \leq 0,05$.

RESULTADOS

El heno de festuca alta utilizado en el ensayo presentó la siguiente composición química: materia seca (MS) 910 g kg⁻¹ tal cual, proteína bruta (PB) 63 g kg⁻¹ MS, cenizas 87 g kg⁻¹ MS, fibra en detergente neutro (FDN) 773 g kg⁻¹ MS, fibra en detergente ácido (FDA) 432 g kg⁻¹ MS y lignina en detergente ácido (LDA) 40 g kg⁻¹ MS.

Al comparar láminas y vainas foliares del material original la proporción de tejidos no digeribles, así como el total de tejidos digeribles (TLD+TRD) fue idéntica (Fig.1 A y H). Sin embargo, las láminas presentaron

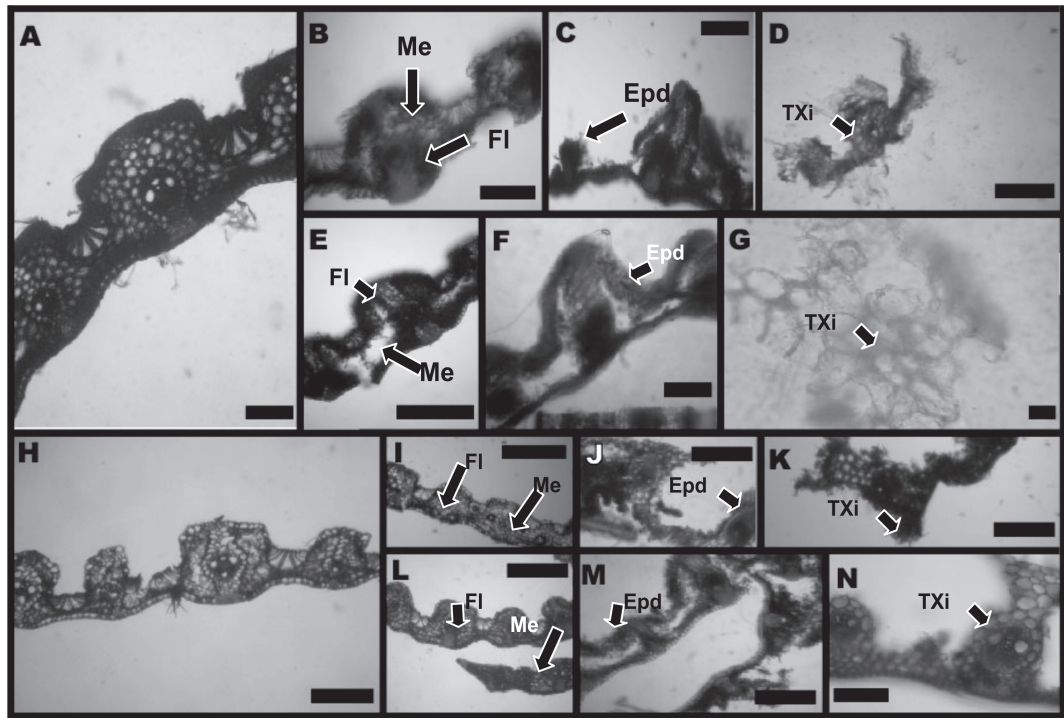


Fig. 1. Corte transversal de la hoja de *F. arundinacea*, a microscopio óptico. A-G) Lámina. H-N) Vaina. Tiempo de incubación: A y H) 0 hs, todos los tejidos intactos; B, E, I, L) 12 hs, comienza la degradación de los tejidos del mesofilo (Me) y del floema (FI); C, F, J, M) 24 hs, momento en que se notó la desaparición de parte de la epidermis de la superficie adaxial (Eps: epidermis degradada); D, G, K, N) 48 hs, sólo se identificaron restos de tejido xilemático (miembros de vasos, TXi) asociados al esclerénquima de las vainas y láminas foliares. B-D, I-K) Degradación en licor ruminal de llama. E-G; L-N) Degradación en licor ruminal de oveja. Escala gráfica: 40 μ m.

una mayor proporción de TRD ($p=0,08$), y menor de TLD ($p=0,001$) respecto a las vainas (Tabla 1).

La degradación de los tejidos del mesofilo y del floema en todas las muestras comenzó a las 12 hs, manteniéndose intacto el resto de los tejidos (Fig. 1 B, E, I, L). La degradación de los TRD continuó hasta las 24 hs, momento en que se notó la desaparición de parte de la epidermis de la superficie adaxial (Fig. 1 C, F, J, M). A las 48 hs, sólo se identificaron restos de tejido xilemático (miembros de vasos) asociados al esclerénquima de las vainas y láminas foliares (Fig. 1 D, G, K, N).

No se detectaron diferencias ($p > 0,05$) entre llamas y ovejas en la degradabilidad de los tejidos (Tabla 2).

Los resultados mostraron que el TLD significaron una proporción mayor en las láminas. Sin embargo, para el resto de los tejidos, la interacción Fracción \times Tiempo resultó significativa para las 12 hs donde los TND en las vainas constituyeron una proporción mayor que en las láminas ($L=41$, $V=57$, EEM (error estándar de la media)= 5,3 $p=0,003$), y a las 24 hs el total de los tejidos degradables de las láminas ($L=57$) alcanzaron una proporción mayor que las vainas ($V=38$; EEM= 5,3, $p=0,02$; Tabla 1).

DISCUSIÓN

La degradación tisular en diferentes tiempos de permanencia en rumen de llama y oveja, considerando el análisis cualitativo

Tabla 1. Degradabilidad de los grupos tisulares en láminas y vainas foliares de *Festuca arundinacea*. Porcentaje del total.

Tejido / Susceptibilidad a la digestión	Lámina	Vaina	EEM ¹	p
Rápidamente digestible	42	30	4,2	0,0800
Lentamente digestible	28	37	1,1	0,0014
No digestible	30	33	3,4	0,5200
Total	100	100	-	-

¹ Error standard de la media.

de tejidos de lámina y vaina foliar, mostró resultados coherentes con la velocidad y el orden esperado según los modelos de degradación de tejidos propuesto y descrito por otros autores (Tivano *et al.*, 2007; Feijóo y Arriaga, 2012; Arriaga *et al.*, 2013).

No se encontraron indicios de una degradabilidad diferencial en tejidos de la lámina y vaina de *Festuca arundinacea*, entre ovejas y llamas, no pudiendo corroborar la mayor eficiencia en la degradación del tejido esclerenquimático (fibras) de los camélidos frente a los ovinos, coincidiendo con lo reportado por Dulphy *et al.* (1997) y Sponheimer *et al.* (2003). Estos autores no encontraron diferencias en las digestibilidades al comparar ambas especies de animales alimentados con dietas de buena calidad. El tipo y calidad de la dieta juegan un rol importante en determinar los parámetros fermentativos del rumen, la digestibilidad y el metabolismo, por lo que es factible que existan interacciones de significancia asociadas con la calidad del forraje.

Con respecto a la degradación ruminal de los tejidos foliares, tanto de la vaina como de la lámina, siguieron el patrón característico ya descrito por otros autores, para las gramíneas: parénquima del mesófilo y floema (TRD) > epidermis y parénquima del haz vascular (TLD) > esclerenquima y tejidos vasculares lignificados (TND) (Akin y Burdick, 1975; Magai *et al.*, 1994, Arriaga *et al.*, 2013).

Las diferencias encontradas en el porcentaje de tejido remanente no degradado a las 12 hs y a las 24 hs entre lámina y vaina, puede explicarse por la distribución y composición de los tejidos foliares, ya sea por su grado de lignificación o por su accesibilidad por parte de los microorganismos ruminales, como ya han demostrado otros autores (Gasser *et al.*, 2005). La anatomía de la vaina es intermedia entre la anatomía que presenta la lámina y el tallo. La vaina de la hoja se caracteriza por presentar mayores porcentajes de tejido vascular, esclerenquima y parénquima, y menores porcentajes de

Tabla 2. Degradabilidad de los tejidos vegetales rápidamente (TRD), lentamente (TLD) y no digestibles (TND) según especie animal, fracción de la hoja (L, lámina y V, vaina) a las 12 y 24 h de incubación (T12 y T24 respectivamente). Valor medios ajustados (%).

Tejido	Especie animal			Fracción de la hoja ¹					Tiempo de incubación				Int. ²
	Llama	Ovino	EEM	p	L	V	EEM	p	T12	T24	EEM	p	
TND	42	41	4,5	0,87	38	46	3,6	0,030*	34	49	4,1	0,001*	0,003 ³
TRD	41	42	3,4	0,70	44	39	3,3	0,170	46	37	3,3	0,007*	0,080 ⁴
TLD	13	16	2,6	0,29	17	11	2,1	0,004*	18	11	2,4	0,005*	0,390
TDegr ⁵	54	58	4,0	0,30	61	51	3,5	0,007*	65	47	3,8	0,360	0,020 ⁶

¹ L, lámina; V, vaina.

² Interacción Fracción x Tiempo.

³ A las 12 h, L = V = 34; a las 24 h, L = 41, V = 57; EEM = 5,3, p = 0,003.

⁴ A las 12 h, L = 46, V = 47; a las 24 h, L = 42, V = 31; EEM = 4,7, p = 0,08.

⁵ TDegr = TRD + TLD.

⁶ A las 12 h, L = V = 65; a las 24 h, L = 57, V = 38; EEM = 5,3, p = 0,02.

⁷ * p < 0,05, significativo

mesófilo y epidermis, con respecto a la lámina (Tivano *et al.*, 2007).

Por lo tanto, tejidos altamente ordenados y de paredes secundarias lignificadas, como el esclerénquima y el xilema, tienen una doble barrera física y química que no permiten su degradación (Wilson y Hatfield, 1997). Esto podría explicar que a las 48 hs sólo se encuentren remanentes de estos tejidos, coincidiendo con los resultados encontrados en otras especies forrajeras estudiadas, como en *Bromus auleticus*, la cebadilla chaqueña (Gasser *et al.*, 2005).

CONCLUSIONES

La degradabilidad ruminal de lámina y vaina de *Festuca arundinacea* no fue diferente en las dos especies de animales estudiadas. Sin embargo, entre las fracciones de la hoja, los tejidos esclerenquimáticos y xilemáticos son los que presentaron una degradabilidad diferencial a las 24 hs, debido a la composición química de sus paredes. Estos datos constituyen un estudio comparativo preliminar sobre la posible diferencia entre la eficiencia de degradación de la fibra de los camélidos y ovinos, utilizando como método de evaluación la degradación *in sacco*. Estos resultados complementan al conocimiento sobre la composición de los microorganismos ruminales y su rol en la degradación de la fibra, en cada especie de rumiante estudiado.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por UBACyT 2014/17 N°735 BA, CISNA (Centro de Inv. y Servicios en Nutrición Animal, FAUBA) y por el Pronabec-Perú. El Sr. Abimael Ortiz agradece el apoyo recibido por el PRONABEC para desarrollar estudios de posgrado en la Maestría en Producción Animal de la UBA y la Dra. M.G. Fernández Pepi a CONICET por la beca Postdoctoral Agradecemos a los señores H. González y A. Flores por su colaboración durante el ensayo. A los revisores, quienes con sus aportes han enriquecido al manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

- Agnusdei M. G., Di Marco O. N., Nanning F. R., Aello M. S. 2011. Leaf blade nutritional quality of rhodes grass (*Chloris gayana*) as affected by leaf age and length. *Crop and Pasture Science* 62: 1098-1105.
- Akin D. E. 1984. Microbial breakdown of feed in the digestive tract. In: Hacker J.B. (Ed.). *Nutritional limits to animal production from pastures*. C.A.B. London 201-223 pp.
- Akin D. E., Burdick B. 1975. Percentage of tissues types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. *Crop Science* 15: 661.
- Arriaga M. O., Jaurena G., Fernández Pepi M. G., Stampacchio M. L. 2013. Anatomía cuantitativa en seis especies de gramíneas megatémicas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 48 (Supl): 135.
- Bianco C. A., Kraus T. A., Vegetti A. C. 2004. *La Hoja: Morfología externa y anatomía*. 1ra Edición. Córdoba. Universidad Nacional de Río Cuarto. 159-160 pp.
- Burns J. C. 2009. Nutritive value. En: Fribourg, H.A.; Hannaway, D.B.; West, C.P. (eds.). *Tall fescue for the Twenty-first Century*. Agron. Monogr. 53. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. pp.159-202.
- Chesson A. 1993. Mechanistic models of forage cell wall degradation. In: JUNG *et al.* (eds). *Forage cell wall structure and digestibility*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 347-375 pp.
- Di Marco O. N., Harkes H., Agnusdei M. G. 2013. Calidad de agropiro alargado (*Thinopyrum ponticum*) en estado vegetativo en relación a la edad y longitud de las hojas. *Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)* 39: 105-110.
- Dulphy J. P., Ballet J. M., Jailler M., Detour A. 1997. Comparaison des activités alimentaires et métriques de lamas et de moutons recevant des fourrages secs. *Annales de Zootechnie* 46: 117-125.
- Duru M., Ducrocq, H. 2002. A model of lamina digestibility of orchardgrass as influenced by nitrogen and defoliation. *Crop Science* 42: 214-223.
- Ehlke N. J., Casler M. D. 1985. Anatomical characteristics of smooth brome-grass clones selected for *in vitro* dry matter digestibility. *Crop Science* 25: 513-517.
- Engelhardt W., Lechner-Doll M., Heller R., Rutagwenda T. 1988. Physiology of the forestomach in the camelids with particular reference to adaptation to extreme dietary conditions—a comparative approach. *Animal Research Development* 28: 56-70.
- Feijóo M. B., Arriaga M. O. 2012. Calidad forrajera de *Eleocharis* (Cyperaceae) en Patagonia Argentina. *Editorial Académica Española*. 52 pp.

- Ferrés Terra P. 1982. Evaluación primaria de gramíneas forrajeras por el método de transección foliar. *Revista Técnica. Facultad de Agronomía Universidad de la República del Uruguay* 52: 77-102.
- Gasser M., Ramos J., Vegetti A., Tivano J. C. 2005. Digestión de láminas foliares de *Bromus auleticus* Trin. Ex Nees sometidas a diferentes tiempos de incubación ruminal. *Agricultura Técnica* 65 (2): 48-54.
- Groot J. C., Neuteboom J. H. 1997. Composition and digestibility during ageing of Italian ryegrass leaves of consecutive insertion the same levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 75: 227-236.
- Hanna W. E.; Monson W. G., Burton G. W. 1973. Histological examination of fresh forrage leaves after *in vitro* digestión. *Crop Science* 13: 98-102.
- Insua J. R., Agnusdei M. G., Di Marco O. N. 2012. Calidad nutritiva de láminas de dos cultivares de «festuca alta» (*Festuca arundinacea* Schreb). *Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)* 38 (2): 190-195.
- Jouany J. P., Dulphy J. P., Kayouli C. 1995. Comparative abilities of feed intake and microbial digestion in the forestomachs of camelids y ruminants. In: *Rumen Ecology Research Planning. Proc of Workshop, Addis Ababa, 13-18 March 1995* (RJ Wallace, A Lahlou-Kassi, eds), Int Livestock Research Institute, Nairobi, Kenya, 163-176 pp.
- Jung H.; Buxton D. R.; Hatfield R. D.; Mertens D.R.; Ralph J., Weimer P. J. 1996. Genetic manipulation of cell wall. Informational conference with dairy and forage industries. US Dairy Research Center. Disponible en: http://www.dfrc.wisc.edu/Research_Summaries/ind_meet/dfrc2.pdf. Accessed [Vol. 17].
- Magai M. M., Sleper D. A., Beuselink P. R. 1994. Degradation of three warm season grasses in a prepared cellulase solution. *Agronomy Journal* 86: 1049-1053.
- Raggi L. A., Ferrando G. 1998. Advances in adaptation and physiology of South American camelids. *Avances en Ciencias Veterinarias* 13: 3-15.
- San Martin F., Bryant F. C. 1989. Nutrition of domesticated South American llamas and alpacas. *Small Ruminant Research* 2: 191-216.
- Sauvant D., Ramangasoavina B. 1991. Rumen modeling. In: Jouany, J. P. (Ed.), *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*. INRA, Paris. 283-296 pp.
- Sponheimer M., Robinson T., Roeder B., Hammer J., Ayliffe J., Passey B., Cerling T., Dearing D., Ehleringer J. 2003. Digestion and passage rates of grass hays by llamas, alpacas, goats, rabbits y horses. *Small Ruminant Research* 48:149-154.
- Tivano J. C., Vegetti A. C., Brollo M. E. 1990. Utilización de los caracteres histofoliares en la evaluación de la calidad forrajera de 7 líneas de *Paspalum dilatatum* Poir (Poaceae). *Revista Argentina de Producción Animal* 10: 13-17.
- Tivano J. C., Heinzen F. A. 1996. Anatomía cuatitativa en 3 cultivares de *Dichanthium aristatum* (Poiret) C. E. Hulbard (Poaceae) para inferir su valor forrajero. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 101: 15-23.
- Tivano J. C., Ramos J. C., Gasser M. 2007. Digestibilidad de los pastos. Bases histoquímicas. Ediciones Universidad Nacional del Litoral. 35-43 pp.
- UTHSCSA. 2000. University of Texas Health Science Center at San Antonio. <ftp://maxrad6.uthscsa.edu>
- Vallenas A., Cummings J. F., Munnell J. F. 1971. A gross study of the compartmentalized stomach of two new-world camelids, the llama and guanaco. *Journal of Morphology*. 134: 399-423.
- Van Soest P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the ruminant*. 2ª ed. Cornell Univ. Press, Ithaca and London. 476 pp.
- Wilson J. R. 1993. Organization of forage plant tissues. In: JUNG *et al.* (eds.). *Forage cell wall structure and digestibility*. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 1-32 pp.
- Wilson J. R., Hatfield R. D. 1997. Structural and chemical changes of cell wall types during stem development: Consequence for fibre degradation rumen microflora. *Australian Journal of Agricultural Research* 48: 16-180.