

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
ESCUELA DE POSGRADO
DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL**



**“USO DEL NITRÓGENO EN ALPACAS Y OVINOS A DIFERENTES
NIVELES DE PROTEÍNA EN LA DIETA”**

Presentada por:

JUAN PAVEL OLAZABAL LOAIZA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTORIS PHILOSOPHIAE EN CIENCIA ANIMAL**

Lima - Perú

2024

Tesis doctoral nitrogeno alpacas y ovinos 07 05 2024.docx

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

9%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	6%
2	revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	dev.scielo.org.pe Fuente de Internet	1%
6	Juan Olazabal-Loaiza, Luis A. Gomez-Puerta, Felipe San Martín, Carlos A. Gómez-Bravo. "Circadian rhythm of salivary and serum urea concentration in alpacas and sheep receiving diets with different levels of protein", Veterinary Research Communications, 2024 Publicación	<1%
7	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	<1%

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL

**“USO DEL NITRÓGENO EN ALPACAS Y OVINOS A
DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA EN LA DIETA”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTORIS PHILOSOPHIAE**

Presentada por:

JUAN PAVEL OLAZABAL LOAIZA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Carlos Vílchez Perales
PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Gómez Bravo
ASESOR

Dra. María Elena Espinoza Villanueva
MIEMBRO

Ph.D. Javier Ñaupari Vásquez
MIEMBRO

Ph.D. Felipe Antonio San Martín Howard
MIEMBRO EXTERNO

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado de manera muy especial a mis hijos Juan, Ángel y Margareth quienes siempre me muestran lo fuertes que son y me apoyaron de forma directa e indirecta concluir este paso... gracias chicos.

AGRADECIMIENTOS

Al Ph. D. Felipe San Martín Howard por guiarme en el camino de la investigación.

A mi asesor de tesis Ph. D. Carlos Gómez Bravo por su orientación y enseñanza en el desarrollo del presente trabajo.

A los miembros del jurado quienes con sus sugerencias y recomendaciones me permitieron consolidar la investigación.

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria por haberme brindado todo el apoyo para la culminación de mis estudios y el financiamiento parcial de la investigación.

A mis amigos con quienes compartí buenos momentos y quienes siempre me brindaron su apoyo, les estaré eternamente agradecido.

A todas las personas que contribuyeron directa e indirectamente desde la concepción, ejecución, redacción de este documento.

Al programa Nacional de Desarrollo Tecnológico e Innovación Pro innóvate por el financiamiento a los estudios de doctorado.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Anatomía y fisiología digestiva de los camélidos sudamericanos y los rumiantes	3
2.1.1 Anatomía digestiva	3
2.1.2 Fisiología digestiva	6
2.2 Digestión y metabolismo del nitrógeno en rumiantes	8
2.2.1 Digestión de los compuestos nitrogenados	9
2.2.2 Reciclaje de nitrógeno	13
2.2.3 Factores que afectan la eficiencia del nitrógeno en el rumen	15
2.2.4 Nitrógeno ureico sanguíneo en rumiantes	16
2.2.5 Requerimiento de proteína en camélidos sudamericanos	18
2.3 Técnicas para medir la digestibilidad	19
2.3.1 Digestibilidad <i>in vitro</i>	19
2.3.2 Digestibilidad <i>in vivo</i>	20
2.3.3 Degradabilidad <i>in situ</i>	21
2.4 Ciclo circadiano	23
2.4.1 Mecanismo del ciclo circadiano	24
2.4.2 Ciclo circadiano en animales de producción	25
2.4.3 Ciclo circadiano de la urea	24
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 Localización	27
3.2 Ensayo I: Balance del nitrógeno dietario en alpacas y ovinos en función a diferentes niveles de consumo de nitrógeno	27
3.2.1 Animales	27
3.2.2 Tratamientos	27
3.2.3 Parámetros evaluados	28
3.2.4 Análisis químico	30
3.2.5 Análisis estadístico	31
3.3 Ensayo II: Evaluación de los parámetros de degradabilidad <i>in situ</i> en alpacas y ovinos en forraje de diferente calidad	31

3.3.1	Animales	31
3.3.2	Tratamientos	32
3.3.3	Degradabilidad <i>in situ</i>	32
3.3.4	Análisis químico	33
3.3.5	Cinética de digestión	33
3.3.6	Análisis estadístico	34
3.4	Ensayo III: Ritmo circadiano de urea en sangre y saliva en alpacas y ovinos recibiendo dietas con diferentes niveles de proteína	34
3.4.1	Animales	34
3.4.2	Tratamientos	35
3.4.3	Muestreo	35
3.4.4	Análisis de laboratorio	36
3.4.5	Análisis estadístico	36
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1	Ensayo I: Balance del nitrógeno dietario en alpacas y ovinos a diferentes niveles de consumo de nitrógeno en la dieta	38
4.1.1	Consumo de materia seca y nitrógeno	38
4.1.2	Excreción de nitrógeno	41
4.1.3	Digestibilidad del nitrógeno	43
4.1.4	Balance de nitrógeno	44
4.2	Ensayo II: Evaluación de los parámetros de degradabilidad <i>in situ</i> en alpacas y ovinos en forraje de diferente calidad	45
4.2.1	Análisis químico del forraje	45
4.2.2	Modelo de degradabilidad	46
4.2.3	Parámetros de la degradabilidad <i>in situ</i> de la materia seca	48
4.2.4	Parámetros de la degradabilidad <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro	51
4.2.5	Parámetros de la degradabilidad <i>in situ</i> de la proteína cruda	53
4.3	Ensayo III: Ritmo circadiano de urea en sangre y saliva en alpacas y ovinos recibiendo dietas con diferentes niveles de proteína	56
4.4	Discusión general	60
V.	CONCLUSIONES	63
VI.	RECOMENDACIONES	64

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

65

VIII. ANEXOS

81

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Cuadro 1	Diferencias entre camélidos sudamericanos y rumiantes	4
Cuadro 2	Ingredientes y composición química de dietas experimentales	28
Cuadro 3	Ingredientes y composición química de dietas experimentales con alto y bajo contenido de proteína cruda (PC)	35
Cuadro 4	Efecto del nivel de nitrógeno en la dieta sobre la digestibilidad de N en alpacas y ovinos	39
Cuadro 5	Efecto del nivel de nitrógeno en la dieta en el balance de N en alpacas y ovinos (g/d/kg PV ^{0.75})	40
Cuadro 6	Composición química (por ciento) de los forrajes evaluados	46
Cuadro 7	Parámetros de degradabilidad de la materia seca	49
Cuadro 8	Parámetros de degradabilidad de la fibra detergente neutra	52
Cuadro 9	Parámetros de degradabilidad de la proteína cruda	54
Cuadro 10	Parámetros del modelo Cosinor en alpacas y ovinos a dos niveles de proteína cruda en la dieta	58

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Comparación del estómago entre rumiantes y camélidos	5
Figura 2 Metabolismo y digestión de los compuestos nitrogenados en el rumen.	9
Figura 3 Curva de degradabilidad de la materia seca	47
Figura 4 Curva de degradabilidad de la fibra detergente neutro	47
Figura 5 Curva de degradabilidad de la proteína cruda	48
Figura 6 Ritmo circadiano de urea en suero en alpacas y ovinos a diferentes niveles de proteína cruda en la dieta	56
Figura 7 Ritmo circadiano de urea en saliva en alpacas y ovinos a diferentes niveles de proteína cruda en la dieta	57
Figura 8 Urea en sangre y saliva en alpacas y ovinos	60

ÍNDICE DE ANEXO

	Pág.
Anexo 1 Constancia de autorización del comité de ética y bienestar animal	81

RESUMEN

Con el objetivo de comparar el uso del nitrógeno entre alpacas y ovinos a diferentes niveles de proteína cruda (PC) en la dieta, se realizaron tres ensayos. En el primero se evaluó el ritmo circadiano de urea en sangre y saliva en alpacas y ovinos recibiendo dietas con diferentes niveles de PC. La urea en suero y saliva en alpacas y ovinos presentaron ciclo circadiano y estos se vieron influenciados por el nivel de PC. El ritmo medio ajustado en sangre fue mayor ($P < 0.05$) en alpacas y ovejas a mayor nivel de PC y menor ($P < 0.05$) en ovejas a bajo nivel de PC. En el segundo ensayo se evaluaron los parámetros de degradabilidad *in situ* de la materia seca (MS), fibra detergente neutro (FDN) y PC en alpacas y ovinos con forraje de diferente calidad. Las alpacas tuvieron mayor ($P < 0.05$) degradabilidad potencial (b) de la MS y FDN para avena madura que los ovinos, sin diferencia ($P > 0.05$) en la fracción soluble (a) ni en la velocidad de degradación (c). No se observaron ($P > 0.05$) diferencias para degradabilidad potencial (b), velocidad de degradación (c) de la MS y FDN para avena joven entre alpacas y ovinos. La fracción soluble (a), la degradabilidad potencial (b) y la velocidad de degradación (c) de la PC para avena joven y madura fueron similares ($P > 0.05$) entre alpacas y ovinos. La degradabilidad potencial (b) de la PC es mayor ($P < 0.05$) en avena joven en alpacas y ovinos. El tercer ensayo evaluó el balance del nitrógeno (N) dietario en alpacas y ovinos en función a diferentes niveles de N. La digestibilidad del N es similar ($P > 0.05$) entre alpacas y ovinos, incrementándose de acuerdo al nivel de N en la dieta. Las alpacas presentan mayor ($P < 0.05$) eficiencia en la retención del N consumido que los ovinos. Se concluye que las alpacas son más eficientes en el uso del N que los ovinos con alimentos de bajo contenido de N y la eficiencia está asociada al bajo consumo de MS y al mayor reciclaje de N.

Palabras claves: nitrógeno, alpacas, ovinos, circadiano, degradabilidad

ABSTRACT

With the objective of comparing nitrogen use between alpacas and sheep at different protein levels in the diet, three trials were carried out. In the first, the circadian rhythm of urea in blood and saliva was evaluated in alpacas and sheep receiving diets with different levels of crude protein (CP). Urea in serum and saliva in alpacas and sheep showed a circadian cycle and these were influenced by the level of CP in the diet. The adjusted mean blood rate was higher ($P < 0.05$) in alpacas and sheep at a higher CP level and lower ($P < 0.05$) in sheep at a low CP level. In the second trial, the *in situ* degradability parameters of dry matter (DM), neutral detergent fiber (NDF) and CP were evaluated in alpacas and sheep with forage of different quality. Alpacas had greater ($P < 0.05$) potential degradability (b) of DM and NDF for mature oats than sheep, with no difference ($P > 0.05$) in the soluble fraction (a) or in the degradation rate (c). No differences were observed ($P > 0.05$) for potential degradability (b), degradation rate (c) of DM and NDF for young oats between alpacas and sheep. The soluble fraction (a), potential degradability (b) and degradation rate (c) of CP for young and mature oats were similar ($P > 0.05$) between alpacas and sheep. The potential degradability (b) of PC is greater ($P < 0.05$) in young oats in alpacas and sheep. In the third trial, the dietary nitrogen (N) balance was evaluated in alpacas and sheep based on different levels of N consumption. The digestibility of N is similar ($P > 0.05$) between alpacas and sheep, increasing according to the level of N in the diet. Alpacas have greater ($P < 0.05$) efficiency in retaining consumed N than sheep. It is concluded that alpacas are more efficient in the use of N than sheep with low-N content foods and the efficiency is associated with low DM consumption and greater N recycling.

Keywords: nitrogen, alpacas, ovinos, circadian, degradability

I. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N) es uno de los elementos más importantes y esenciales para todo ser vivo ya que forma parte de los aminoácidos que componen las proteínas requeridas por todos los organismos, jugando un rol importante en la producción animal al ser esencial para la producción de tejido animal, leche, huevos y lana. Los rumiantes tienen la capacidad única de transformar N dietético de calidad relativamente baja en N de alta calidad como proteínas animales (es decir, carne y leche). Al ser un componente de los nutrientes esenciales, el N es de gran importancia para el crecimiento y la productividad animal (Hristov et al., 2019).

La ganadería de rumiantes, sin embargo, es relativamente ineficiente en el uso del N del alimento, incrementando los costos de alimentación (Schroeder y Titgemeyer, 2008). Información sobre eficiencia de N en vacas varía de 14 al 45 por ciento para América del Norte y Europa del Norte, respectivamente (Huhtanen y Hristov, 2009). Otra información muestra que la eficiencia en granjas lecheras y corrales de engorde de carne mostraron la eficiencia de conversión de N del alimento en leche o ganancia de peso corporal de 27 y 14 por ciento, respectivamente (Hristov, 2011). El N no retenido en los tejidos animales ni secretado en la leche es excretado en orina y heces, contribuyendo a la contaminación del agua (Hristov, 2011; Külling et al., 2001). El N urinario es mucho más lábil y susceptible a pérdidas rápidas por lixiviación y volatilización que el N fecal (Dijkstra et al., 2018).

La gran variación en la eliminación de N por la orina, comparado con el N eliminado en las heces, presenta una oportunidad para manipular dietas para reducir la eliminación de N en la orina (Dijkstra et al., 2018). Por lo tanto, comprender el metabolismo del N y estudiar procesos y prácticas que puedan mejorar la eficiencia de utilización de N con fines productivos han sido un foco principal de la investigación sobre nutrición de rumiantes durante más de un siglo (Bergen, 2007; Schwab y Broderick, 2017). Las investigaciones más recientes se han inclinado hacia la mitigación de emisiones de N (es decir, amoníaco, nitrato y óxido nítrico) para el medio ambiente, para esto se vienen utilizando técnicas de medición

precisas para obtener resultados experimentales confiables sobre la utilización de N por rumiantes y así evaluar la eficiencia de la emisión de N y generar tecnologías de mitigación.

Por otro lado, los Camélidos Sudamericanos (CSA) presentan una eficiencia mayor en el uso de pastos con bajo contenido de N, para lograr esto presentan particularidades fisiológicas digestivas particulares que se pueden sintetizar en menores tasas de recambio y de excreción renal de urea en relación con otros rumiantes (Mousa et al., 1983). Se menciona también que los CSA se diferencian de los ovinos en el uso del N, por tener: a) una mayor actividad de la enzima ureasa (Mousa et al., 1983) por las bacterias en el tracto digestivo, b) mayor reciclaje de N (Hinderer y Engelhardt, 1975) y c) mayores niveles de nitrógeno ureico sanguíneo (Huamán et al., 2023).

La investigación realizada en rumiantes ha contribuido a hacer más eficiente el uso del N, sin embargo, la información sobre el uso del N en alpacas es bastante limitada y muchos de los conceptos utilizados son extrapolaciones de lo que ocurre en rumiantes. Por las consideraciones expuestas se plantea el presente estudio con el objetivo de comparar el uso del N entre alpacas y ovinos y los objetivos específicos de: 1) Determinar el balance del N dietario en alpacas y ovinos en función a diferentes niveles de consumo de N, 2) Evaluar los parámetros de degradabilidad *in situ* de la fibra detergente neutro y N en alpacas y ovinos en forraje de diferente calidad y 3) Evaluar el ritmo circadiano de urea en sangre y saliva en alpacas y ovinos recibiendo dietas con diferentes niveles de proteína cruda.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Anatomía y fisiología digestiva de los camélidos sudamericanos y los rumiantes

Los Camélidos sudamericanos (CSA), comprenden a dos especies domésticas (alpacas y llamas) y dos silvestres (vicuñas y guanacos). La alpaca (*Vicugna pacos*) es un herbívoro autóctono de los andes que fue domesticado en la zona andina hace 6000 a 7000 años teniendo como su ancestro silvestre la vicuña (*Vicugna vicugna*) (Kadwell et al., 2001).

Los CSA muestran particularidades anatómicas y fisiológicas digestivas respecto a los rumiantes, estas particularidades propias de los CSA frente a los rumiantes son debido a que ambos tuvieron un proceso de evolución paralelo (Fowler, 2010).

2.2.1 Anatomía digestiva

Los CSA presentan peculiaridades anatómicas digestivas únicas. Los labios de los CSA son relativamente delgados. Sus labios están formados por un labio superior partido por un surco medio (labio leporino) y un labio inferior, ambas estructuras presentan movimientos independientes y móviles. Estas particularidades les permiten seleccionar alimentos con gran eficacia mientras pastorean (San Martín y Bryant, 1989).

Al igual que los rumiantes, los CSA presentan glándulas salivales, las glándulas parótidas son serosas y las otras son tanto mixtas (mucosa y serosa) como mucosas (San Martín, 1994), la principal actividad de las glándulas salivales es la producción de saliva cuyas funciones son: a) lubricación del alimento seco, b) mitigar los efectos de los ácidos producidos durante el proceso de fermentación a través de las sustancias buffer agregar como los bicarbonato y fosfato y c) reciclar los nutrientes como el fósforo y la urea.

Mientras que el estómago de los rumiantes está dividido en cuatro compartimientos (rumen, retículo, omaso y abomaso), los CSA tienen el estómago dividido en tres compartimientos (C1, C2 y C3) (Vater et al., 2021) (Cuadro 1). El rumen es comparado muchas veces con el primer gran compartimiento (C1) de las alpacas, sin embargo, ambos tienen características

diferentes. La capacidad del volumen gástrico del C1 es aproximadamente el 83 por ciento y hacia la zona ventral presenta un surco transversal externamente y un prominente pilar muscular como contraparte interna, dividiendo el C1 en dos sacos, craneal y caudal. Ventralmente los sacos del C1 presentan un área con saculaciones de paredes delgadas, muy característico de los CSA.

Cuadro 1: Diferencias entre camélidos sudamericanos y rumiantes

Camélidos sudamericanos	Rumiantes
Tres compartimientos	Cuatro compartimientos
Tejido glandular en todos los compartimientos	Tejido glandular en el abomaso
C1 no papilado	Rumen papilado
C1 epitelio no keratinizado escamoso	Rumen epitelio keratinizado escamoso

Fuente: Vater et al. (2021).

El saco caudal del C1 tiene comunicación con el segundo compartimiento (C2), que es más pequeño y con tiene un volumen del seis por ciento de la capacidad gástrica total y también presenta saculaciones. El tercer compartimiento (C3) se ubica cranealmente al C2 y están unidos a través de un conducto tubular angosto y de paredes gruesas, parecido a un esfínter (Abbas et al., 1995) (Figura 1).

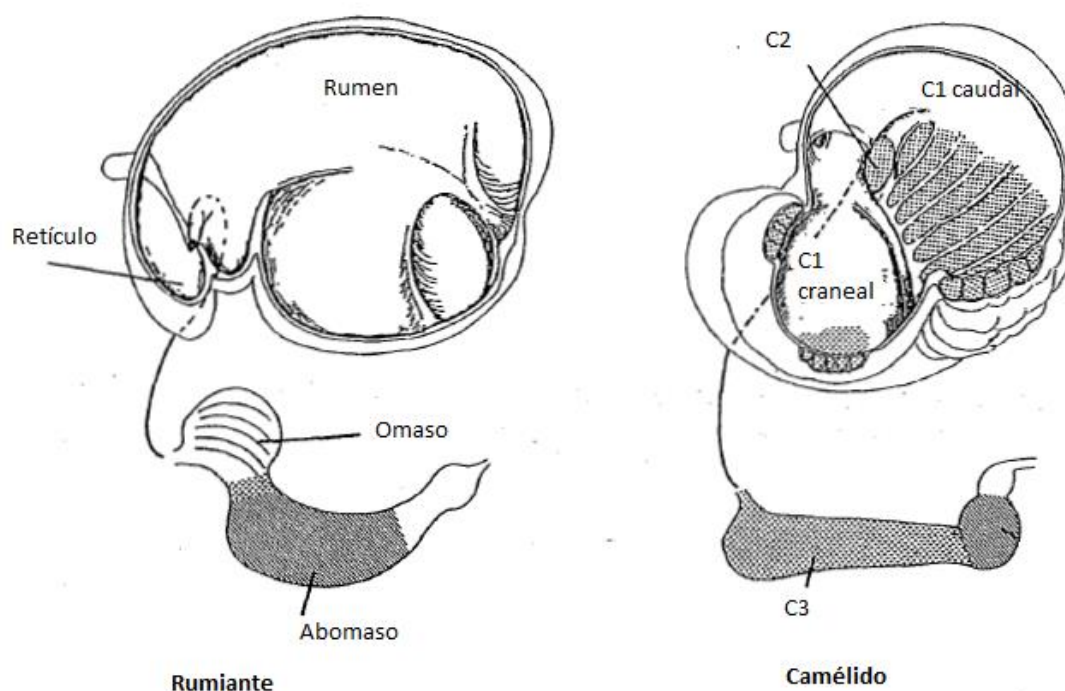


Figura 1. Comparación del estómago entre rumiantes y camélidos

Fuente: Abbas et al. (1995).

Existe mucosa glandular mucígena en el revestimiento interno tanto de los sáculos glandulares del C1 y C2, así como alrededor del 80 % de la zona proximal del C3 y por epitelio escamoso estratificado las áreas no glandulares. El 20 % de la parte terminal del C3 presenta glándulas gástricas y pilóricas propias (Vater et al., 2021).

Una diferencia anatómica importante entre rumiantes y CSA es la existencia de sáculos pequeños en el C1 y C2 (Vater et al., 2021), la función de estos es de glándulas accesorias con capacidad buffer debido a la producción de bicarbonato (Eckerlin y Stevens, 1973; Jouany, 2000) y almacén de agua (Schmidt-Nielsen, 1964), haciéndolos muy eficientes para contrarrestar los AGV generados por la fermentación microbiana (Vallenas y Stevens, 1971). Otra función que se atribuye a estos sáculos es la rápida absorción de los productos generados de la fermentación. Estas funciones de los sáculos contribuyen a mantener un pH estable en el C1 y promueven una mejor fermentación microbiana (San Martín y Van Saun, 2014). Está demostrado que la capacidad de recuperación de los AGV por los CSA es dos a tres veces mayor a la observada en ovinos y cabras (Rubsamen y Engelhardt, 1978). Tanto la secreción de bicarbonato o a la mayor tasa de absorción de los productos de la digestión,

lo característico en el C1 y el C2 es que el pH del contenido es superior a concentraciones similares de AGV (San Martín y Bryant, 1989).

Aunque la saliva es semejante entre CSA y ovinos, en flujo y composición; los CSA presentan un menor volumen del C1 y C2 por kg de peso metabólico, lo que resulta en una incrementada concentración de elementos buffer por unidad de volumen en estos compartimientos (San Martín y Bryant, 1989).

2.2 Fisiología digestiva

La zona altiplánica del Perú se caracteriza por sus condiciones climáticas adversas, como la sequía estacional que abarca la mayor parte del año, la escasa vegetación y la gran altitud, sumadas a la hipoxia por la baja presión atmosférica, la intensa radiación solar y el frío extremo (Pasha y Newman, 2010), que van a influir directamente sobre la cantidad y calidad de los pastos naturales y bajo estas condiciones los CSA (silvestres y domésticos) se han desarrollado y a partir de la llegada de los españoles los ovinos.

Las principales diferencias de los CSA con los rumiantes son:

a) Mayor tiempo de retención del alimento en el tracto digestivo (San Martín y Bryan, 1989), se reporta que las alpacas retienen el alimento por 50.3 h, mientras que los ovinos 43.2 h (Flórez, 1973), mientras que en llamas el alimento consumido permanece en el tracto digestivo alrededor de 63.2 h y 40.9 h en ovinos (San Martín, 1987). Un aspecto característico respecto al tamaño de las partículas alimenticias es que estas permanecen por más tiempo en las llamas que en los vacunos y caballos, observando que cuando el tamaño es de 0.2-1.0 cm tiene 52 h de tiempo de retención y partículas de 2.5-4.0 cm es 60 h (San Martín y Van Saun, 2014). El tiempo que permanecen las partículas sólidas en el tracto digestivo es un elemento de importancia que va determinar la eficiencia en el uso del alimento en el estómago de los CSA alimentados con dietas de baja calidad. Si, el tiempo de retención del alimento se incrementa se observa un aparente incremento en la utilización de los alimentos de baja calidad (bajo nivel de proteína y alto nivel de fibra) y los alimentos de alta calidad (alto nivel de proteína cruda y baja fibra cruda) son relativamente inafectados por el tiempo de permanencia en el tracto digestivo en los CSA.

b) Menor consumo de alimento (Hinderer y Engelhardt, 1975); el conocimiento existente sobre consumo voluntario en CSA y rumiantes muestra un menor consumo voluntario en

CSA, hasta en un 30 por ciento. Una particularidad de los CSA es su similar o mayor consumo voluntario durante la época seca, siendo paradójico ya que en esta época la calidad de las dietas es menor que la época de lluvias. Estos resultados podrían tener relación con la particularidad de los CSA para incrementar su volumen gástrico frente a un consumo de alimento de menor calidad y así poder cubrir sus requerimientos nutricionales (San Martín y Bryant, 1989).

c) Mayor recuperación de N, los CSA poseen la característica de reciclar gran cantidad de urea a través de la saliva y las paredes del C1 y C2 y menor eliminación renal de N (Hinderer y Engelhardt, 1975), dando como resultado mayor cantidad de N disponible para ser utilizado por los microorganismos en la degradación de los alimentos (Rúa et al., 2017).

d) Mayor actividad de la ureasa por los microorganismos en el C1 y C2, que permite una mayor disponibilidad de N por unidad de tiempo (mmol/h/kg) en el C1 que el bovino y ovino en el rumen, dando como producto una mayor disponibilidad de N para la elaboración de proteína microbiana (Patra y Aschenbach, 2018).

e) Mayor tasa de dilución o tasa de pasaje líquida, un aspecto de importancia referente a la tasa de dilución en el C1 - C2 de los CSA respecto a los ovinos, esta es más rápida en CSA (10.4 por ciento/h) que en ovinos (7.7 por ciento/h) (San Martín, 1987). La más rápida salida del componente líquida en llamas puede deberse a la relación más alta entre el flujo salival y el volumen del C1-C2 (San Martín, 1987); siendo un indicador de una mayor producción y llegada de microorganismos al C3 e intestino delgado en los CSA (San Martín, 1987), al respecto se señala que la síntesis de la proteína microbiana puede incrementarse hasta un 25 por ciento como consecuencia de un incremento en la velocidad de pasaje de la fase líquida por la aplicación de saliva artificial (Florez, 1973). De otra parte, la mayor salida del componente líquido en llama en comparación al ovino, puede interpretarse en una mayor capacidad del desarrollo microbiano en el C1-C2, permitiendo que una reducida porción de energía sea utilizada en el mantenimiento de la población microbiana (Sponheimer et al., 2003).

f) Mayor motilidad del estómago de los CSA, se ha demostrado que la actividad del estómago de los CSA es mayor que la observada en vacunos, ovinos y cabras (Vallenas y Stevens, 1971). Esta mayor motilidad del C1-C2 de los CSA permite una mayor presentación de los alimentos consumidos a los microorganismos para su posterior degradación.

Asimismo, permite la combinación de las fases líquidas y sólidas del contenido digestivo favoreciendo al vaciamiento de los reservorios digestivos (San Martín y Van Saun, 2014).

Resumiendo, las características peculiares anatómicas y fisiológicas del tracto digestivo de los CSA muestran particularidades propias que los hace diferentes a los rumiantes. La mayor capacidad buffer del contenido digestivo de los CSA es la clave de la superioridad de los CSA debido a la relación existente entre la producción de saliva y el volumen de las cámaras fermentativas. La existencia en el estómago de glándulas en el C1, C2 y C3 trabajando en la remoción de ácidos grasos volátiles y secretando bicarbonato, permiten obtener un apropiado medioambiente para la utilización del forraje de baja calidad. La alta capacidad buffer permite un mejor ambiente a las bacterias celulolíticas, sensitivas, estas últimas, a condiciones. A esto se debe incluir hay que agregar la continua actividad del estómago debido a la alta contractibilidad; mayor eficiencia en el reciclaje de urea vía pared del estómago permitiendo mantener el crecimiento microbiano bajo condiciones de limitantes niveles de nitrógeno. Todos estos aspectos le dan a los CSA una gran capacidad para poder desarrollarse en estas condiciones medio ambientales difíciles.

La respuesta conjunta de todas estas características digestivas permite a los CSA, poder extraer los compuestos proteicos y energéticos de los alimentos con bajos contenidos de PC y alto en fibra cruda de forma más eficiente que los rumiantes (San Martín y Bryant, 1989).

2.2 Digestión y metabolismo del nitrógeno en rumiantes

El propósito de la producción animal es convertir los carbohidratos y proteínas de los alimentos a fuentes alimenticias para uso humano; sin embargo, solamente 5 a 30 por ciento del nitrógeno (N) usado en su alimentación es retenido por el animal, siendo el resto excretado al medio ambiente (Kohn et al., 2005). Las pérdidas de N de la agricultura al aire y agua son percibidas como el mayor problema para el medio ambiente (NRC, 2007), siendo la ganadería una fuente significativa del N. El 70 y 30 por ciento, de amoníaco (NH_3) y óxido nitroso, respectivamente, son provenientes de la producción ganadera.

2.2.1 Digestión de los compuestos nitrogenados en rumiantes

La gran diferencia entre los animales monogástricos y poligástricos es que estos últimos pueden conseguir N, para la elaboración proteica, desde diferentes orígenes. Las fuentes exógenas de N, como el alimento, llegan como proteína verdadera y como N no proteico en forma de urea, sales de amonio, ácidos nucleicos, amidas, aminas, aminoácidos y nitratos. Las fuentes endógenas de N están constituidas por la urea y NH_3 que retornan a través de la circulación y de la saliva, los productos de descamación epitelial (Wu, 2019) (Figura 2).

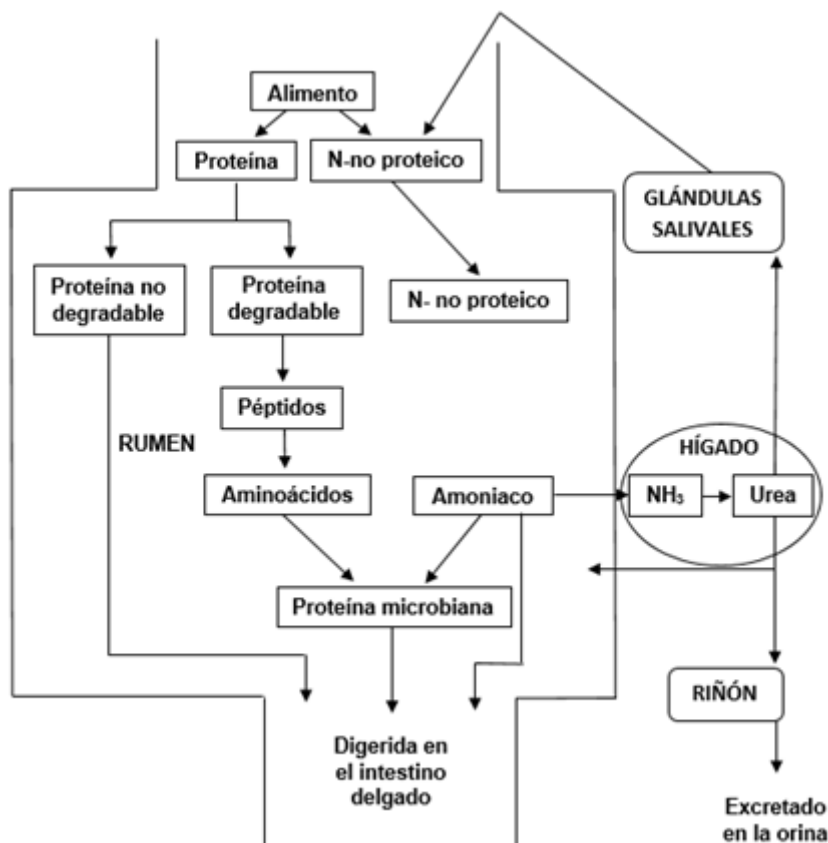


Figura 2. Metabolismo y digestión de los compuestos nitrogenados en el rumen.

Fuente: Adaptado de Bach et al. (2005).

La proteína de la dieta es la principal fuente de N en rumiantes. La digestión de los compuestos proteicos de origen alimenticio en el rumen es un complejo proceso en el que participan tanto bacterias ruminales (Wallace et al., 1997), protozoarios (Hungate, 1966; Lockwood et al., 1988) y hongos anaeróbicos (Orpin, 1984; Wallace y Joblin, 1985). Las bacterias ruminales juegan el más significativo rol en la degradación proteica; la fracción

bacteriana exhibe de 6 a 10 veces mayor actividad específica en la degradación de las proteínas que la fracción de protozoarios (Brock et al., 1982).

Los principales microorganismos involucrados en la digestión de los compuestos proteicos son: a) *Ruminobacter amylophilus*, en esta bacteria ruminal fue en la que se aisló por primera vez la enzima serina proteasa (Lesk y Blackburn, 1971), esta enzima presenta una elevada actividad proteolítica; b) *Prevotella spp.*, este microorganismo elabora la peptidasa intracelular dipeptidil con la función de fraccionar los dipéptidos en aminoácidos (AAs) (Wallace y McKain, 1991), interviniendo sobre la velocidad de degradación de la proteína soluble; c) los protozoarios poseen mayor capacidad proteolítica que las bacterias y los hongos, pero solo tienen un 10 al 20 por ciento de la actividad proteolítica total debido a su menor número (Hungate, 1966); d) hongos anaerobios, su actividad está más relacionada a la descomposición de los componentes fibroso de los vegetales (Lee et al., 2000; Mountfort, 1987) siendo un constituyente importante de la medioambiente ruminal debido a la estabilidad del ambiente ruminal. Se ha demostrado que las proteasas de las plantas pueden también contribuir en la digestión de su propia proteína (Wallace et al., 2001)

La proteína del alimento que ingresa al rumen va a ser utilizada por los diferentes tipos de microorganismos presentes, degradándose de diferente forma de acuerdo a su solubilidad, susceptibilidad a las proteasas microbianas y el tiempo de permanencia en el rumen (Wu, 2019) o soportar la actividad de las enzimas de los diferentes microorganismos presentes en el rumen y llegar al intestino delgado para su digestión.

La primera actividad en la digestión de la proteína cruda en el rumen involucra el ataque de las enzimas extracelulares de los microorganismos a las partículas del alimento, la segunda acción involucra la actividad específica de las proteasas microbianas (Brock et al., 1982), involucrándose muchos microorganismos que proveen las enzimas necesarias para hidrolizar las cadenas de péptidos. Los péptidos y aminoácidos resultantes de la degradación de la proteína por la actividad proteolítica extracelular son incorporados dentro de las células microbianas. Asimismo, los péptidos pueden sufrir una degradación por las peptidasas a aminoácidos, y después pueden ser incluidos a la proteína microbiana o desaminados para formar ácidos grasos volátiles (AGV), CO₂ y NH₃ (Wu, 2019). El NH₃ puede difundir libremente por las paredes del rumen y es eventualmente excretado como urea, siendo una pérdida de N del sistema (Leng y Nolan, 2010a).

La ruta final de los péptidos y aminoácidos absorbidos dentro de la célula microbiana está influenciado por la cantidad de energía disponible. Si la cantidad de energía es suficiente, los aminoácidos pueden ser transaminados o ser usados directamente para síntesis de proteína microbiana. Por otro lado, si la cantidad de energía está limitada, los aminoácidos disponibles pueden ser desaminados y su esqueleto carbonado puede ser fermentado formando AGV. Cierta grupo de bacterias ruminales no presentan ningún sistema de transporte de aminoácidos del citoplasma al ambiente exterior y los aminoácidos (AA) absorbidos en exceso son excretados del citoplasma como NH_3 (Bach et al., 2005).

Una parte de las proteínas del alimento evade la degradación ruminal, llamada proteína sobrepasante, y prosigue su trayecto hasta el abomaso y duodeno donde es sometida a una digestión enzimática de forma muy parecida a la digestión que se lleva a cabo en animales monogástricos (Wu, 2019). Una gran parte de proteína sobrepasante es de origen microbiano que, al fallecer, ofrecen sus proteínas celulares para ser degradadas y asimiladas; otra parte es de origen alimenticio. Los compuestos no degradados, sea provenientes de los microorganismos o de origen alimenticio, son eliminados en las heces (Calsamiglia et al., 2010).

La digestión del N por los diferentes microorganismos presentes en el rumen puede verse afectada por muchos factores que incluyen:

- a) **Tipo de proteína:** la solubilidad de las proteínas es un factor clave determinando su susceptibilidad a las proteasas microbianas y su degradabilidad. La estructura de las proteínas es también importante; algunas albuminas son solubles, pero tienen enlaces disulfuro haciéndolas lentamente degradables en el rumen, ilustrando que factores distintos a la solubilidad afectan la degradabilidad de las proteínas en el rumen (Bach et al., 2005).

La existencia de enlaces dentro y entre las cadenas de proteínas (estructura terciaria y cuaternaria) juega un rol de importante en la determinación de la degradación de las proteínas. Por ejemplo, la subunidad ácida de glicina (con fuertes enlaces disulfuro), la glicina básica y varios péptidos que contienen Leu en el grupo N-terminal en la harina de soya son bastante resistentes a la digestión (Schwingel y Bates, 1996). Además, algunos enlaces peptídicos específicos son más resistentes a la degradación ruminal que otros. Por ejemplo, los dipéptidos formados por Lys-Pro se hidrolizan en el rumen 5 veces más lentamente que el dipéptido Lys-Ala, y los

dipéptidos formados por Pro-Met se degradan 2,5 veces más lentamente que los dipéptidos formados por Met-Ala (Yang y Russell, 1992). También se ha sugerido que las peptidasas y deaminasas pueden ser reguladas por procesos de inhibición del producto final, observándose que la degradación de los AA disminuye a medida que se incrementa la cantidad de diferentes AA en el rumen (Velle et al., 1997).

- b) Tasa de dilución ruminal:** la digestión de la proteína esta inversamente relacionada a la tasa de pasaje a través del rumen (Orskov y Mcdonald, 1979). Existen ecuaciones para la tasa de pasaje de forrajes secos o húmedos y concentrados en el consumo de materia seca, contenido de fibra y la relación de concentrado/forraje de la dieta (NRC, 2007).
- c) Interacción de nutrientes:** los efectos combinados del pH y el sustrato en la degradación de la proteína microbiana pueden ser explicados por la resultante población microbiana predominante. La digestión de las proteínas ocurre por acción de enzimas proteolíticas, pero existe evidencia que soporta la importancia de la actividad de otras enzimas en la digestión de la proteína. El almidón interfiere con la digestión de la proteína (Assoumani et al., 1992), y la incorporación de amilasa incrementa la digestión ruminal de la proteína de granos de cereales entre 6 y 20 por ciento (Tománková y Kopečný, 1995).
- d) Tipo de ración:** la dieta tiene un gran efecto sobre el rango de degradación de la PC, con forrajes disminuye el rango de proteólisis, en algunas instancias, la alimentación con forrajes frescos en dietas secas incrementa el rango de proteólisis, esto puede ser debido a un incremento en la proteína soluble, que incrementa la población microbiana y consecuentemente la cantidad de organismos proteolíticos (Jenkins et al., 2010). Otra hipótesis del incremento de la actividad proteolítica puede ser atribuido a las proteasas de las plantas que pueden contribuir a la inicial degradación. La alimentación con dietas de cereales contribuye a una mayor proteólisis ya sea debido a una diferente población microbiana (Griswold et al., 1999) o debido a una cooperación entre organismos proteolíticos y amilolíticos (Moharrerya y Das, 2002). La alimentación con leguminosas que tienen altos niveles de taninos condensados puede disminuir la degradación proteica ya sea cambiando la configuración de las proteínas de los forrajes o inhibiendo las proteasas microbianas (McSweeney et al., 2001).

2.2.2 Reciclaje de nitrógeno

Los microorganismos ruminales mejoran el estatus proteico de los rumiantes consumiendo dietas bajas en proteína. Los microorganismos no solamente sintetizan proteína de la proteína alimenticia sino también usan de manera eficiente la urea recuperada a través de la saliva y directamente por las paredes del rumen. Así, los compuestos proteicos que llegan al abomaso e intestino delgado pueden exceder a la del alimento. Lo contrario usualmente ocurre cuando se alimenta con dietas altas en proteína donde los microorganismos del rumen no pueden usar completamente los péptidos, aminoácidos y NH_3 liberados durante la digestión de los compuestos proteicos y ocurre un exceso de NH_3 (Broderick, 1996).

Conociendo el proceso de degradación de la proteína en rumiantes, se puede interpretar que si esta es restringida en el alimento, las cantidades de NH_3 generado en el rumen será bajo y, el desarrollo de los microorganismos ruminales, disminuido; pero si la cantidad de proteína se encuentra en mayor porcentaje, su digestión hacia productos nitrogenados, como el NH_3 se verá incrementado, excediendo la capacidad de producción de proteína por los microorganismos ruminales e incrementándose los niveles de NH_3 (Schroeder y Titgemeyer, 2008).

El NH_3 producido durante la digestión de la proteína es resultado de la interacción entre su tasa de degradación, la cantidad de proteína cruda del alimento y la disponibilidad de energía fermentable. La concentración de NH_3 en el rumen generalmente supera las necesidades prácticas para el desarrollo de los microorganismos. Bajo esta realidad, el nivel incrementado de NH_3 es absorbido a través de las paredes ruminales (Bach *et al.*, 2005). El NH_3 es dañino para el organismo, se ioniza y es trasladado por la circulación sanguínea hacia el hígado como amonio (NH_4). En la mitocondria de las células hepáticas, el NH_4 se une al bicarbonato (HCO_3^-) para formar carbamoil fosfato y dar inicio al ciclo de la ornitina o ciclo de la urea y pueda ser excretada o recuperada (Annison y Bryden, 2005). La urea generada en el tejido hepático ingresa a la circulación sanguínea para retornar al rumen ya sea de forma directa por las paredes del rumen o, indirectamente, por la secreción salival (Mc Donald *et al.*, 1999) (Figura 2). La urea que regresa al rumen es hidrolizada por las diferentes ureasas microbianas y es degradada fácilmente en CO_2 y NH_3 (Wu, 2019).

La recuperación de la urea es denominada como reciclaje de urea, que ocurre de forma frecuente en muchos mamíferos, siendo de mucha importancia para los rumiantes, ya que

posibilita que cuando los animales son expuestos a alimentos con bajos niveles de N, poder disponer de una cantidad necesaria de N y así poder sintetizar proteína y mantenerse bajo esas condiciones (Mc Donald *et al.*, 1999). La urea recuperada va llegar al rumen, intestino delgado o intestino grueso, directamente por las paredes de estos órganos o también puede llegar a través de los productos de las glándulas salivales y ser utilizada en el rumen y continuar el proceso normal para que de acuerdo a las condiciones de disponibilidad de N ser eliminado por la orina pasando por los riñones o pueda llegar a la leche o sudor (Lapierre y Lobley, 2010) para ser excretado.

La velocidad de producción de urea puede ser alterada por: hepatocitos, el catabolismo, tasa de depuración renal de la urea, el volumen del plasma que es depurado al pasar de un órgano o tejido en un tiempo determinado (Lapierre y Lobley, 2010), tasa de filtración glomerular o la velocidad de recuperación de urea por los túbulos renales (Marini *et al.*, 2008).

Cuando se presenta algún desequilibrio entre la cantidad de proteínas degradación rápida y la cantidad de energía disponible, como consecuencia de la disminución del aporte energético o la mayor disponibilidad de proteínas fácilmente degradables, los niveles de NH_3 ruminal se van a ver incrementados de forma rápida, debido a que la aptitud de los microbios ruminales para hacer uso es excedido; se almacena alcalinizando el pH del rumen y como consecuencia se aumenta la producción de NH_3 (Sinclair *et al.*, 2011; Moore y Varga, 1996). De otra parte, la influencia del pH del rumen sobre la tasa de absorción del NH_3 por las paredes del rumen es interfiriendo; ya que a mayor pH del rumen (superior a 7.5) se incrementa la tasa de absorción, a causa de un incremento en la transformación de NH_4^+ en NH_3 , que es liposoluble y su absorción es más fácil por las paredes del rumen (Haliburton y Morgan, 1989; Huntington y Archibeque, 2016).

Los factores que influyan en la producción, absorción y transferencia de NH_3 y urea pueden afectar el reciclaje de N en rumiantes. La urea transferida al rumen es inversamente relacionada a los niveles de NH_3 en el rumen (Kennedy y Milligan, 1980), sugiriendo que los niveles de NH_3 fue el factor que regula la entrada de urea al rumen. Los AGV pueden estimular la captación de NH_3 ; se estableció que la absorción de NH_3 fue estimulada por la presencia de AGV, ya sea individualmente o como una mezcla de acetato, propionato, butirato. Similares respuestas a la adición de butirato en la transferencia de NH_3 en la vena ruminal de ovinos también han sido reportadas (Rémond *et al.*, 1993).

El consumo de alimento es un importante factor que influye el retorno de urea al tracto gastrointestinal. La incorporación de la urea sanguínea a la proteína bacteriana es inversamente relacionada al consumo de proteína de vacas (Bunting et al., 1989). La síntesis de urea en ovinos se incrementa con el consumo y excede el N digestible (Sarraseca et al., 2005).

Los niveles de NH_3 en el contenido ruminal está positivamente correlacionada con el número de protozoarios ciliados y los niveles de NH_3 en el contenido ruminal de animales defaunados es bajo comparado con la de animales con protozoarios (Leng y Nolan, 2010b), y se menciona que la absorción de NH_3 es también probable que sea baja en animales defaunados.

Existen otros factores que también pueden influir el reciclaje de urea por rumiantes, semejantes como la condición fisiológica, osmolaridad en el tracto gastrointestinal y hormonas gastrointestinales (Kennedy y Milligan, 1980).

Cuando se alimenta a los rumiantes con productos nitrogenados no proteicos, como la urea, presentan un pico en la producción de amonio (NH_4^+) ruminal (Lapierre y Lobley, 2010) durante la primera hora después a la alimentación. El NH_4^+ es dañino para el organismo y en mamíferos se controla a través de un proceso de transformación, dicha actividad se lleva a cabo en el hígado, y transforma el NH_4^+ a productos no dañinos para el organismo y de eliminación (Visek, 1984). Luego de realizarse la absorción, el NH_4^+ va dirigirse al hígado a través de la vena porta, en este una gran proporción del NH_4^+ se convierte en urea, que va a ser un compuesto mucho menos dañino (40 veces menos tóxico). El resto del NH_4^+ , el que no es convertido a urea, es utilizado para la producción de glutamina, que es un transportador no tóxico del NH_4^+ ya que tiene dos grupos aminos, facilitando su eliminación a través de la orina (Mazzaferro et al., 2000).

2.2.3 Factores que afectan el uso del nitrógeno

La eficiencia en el uso del N está asociados a diversos factores que van desde la digestión, absorción y transferencia en el rumen y estos son asociados en:

a) La situación productiva del animal, la calidad y composición química del alimento ofrecido pueden tener una respuesta significativa sobre la tasa de degradación del N, la

eficiencia del uso del N, el uso de los diferentes nutrientes en el rumen causando cambios en la estructura poblacional de los microorganismos (Lapierre y Lobley, 2010).

b) El número de veces que se ofrece alimento, puede influir en un incremento en la proteólisis; la salida de proteína soluble, el NH_3 y péptidos está directamente asociado con la frecuencia que se ofrece el alimento (Chen et al., 1987). Las veces que se ofrece alimento a un animal junto a la disponibilidad de energía permite una sincronización con la liberación de proteína degradable en el rumen, aumentando la eficiencia en la utilización del N por parte del rumiante y una menor excreción, de esta forma, el incremento en la frecuencia de alimentación beneficia tanto la digestión ruminal y el metabolismo tisular, como la producción de leche. Además, una oferta permanente de alimento, ligada a carbohidratos solubles, permitirá una mayor actividad microbiana con la consiguiente mayor degradación de la fibra y reducirá las fluctuaciones de los diferentes metabolitos, lo que permitirá una mayor oferta de AGV y aminoácidos a la circulación sanguínea y al sistema mamario (Lapierre y Lobley, 2010).

c) Las altas temperaturas, pueden modificar la estructura terciaria de las proteínas y con ello la solubilidad haciendo que se modifique su degradación (Kaufmann y Lüpping, 1982).

d) Los ionóforos, actúan sobre los protozoarios ciliados y las bacterias (Nagaraja, 1995), disminuyendo la población de protozoarios; sin embargo, bajo ciertas circunstancias estos logran desarrollar mecanismos de defensa frente a los efectos nocivos causados por los ionóforos (Dennis *et al.*, 1981). Las bacterias Gram positivas, presentan mayor sensibilidad frente a los ionóforos que las bacterias Gram negativas; la razón es la permeabilidad relativa del recubrimiento de las células bacterianas (las bacterias Gram negativas presentan una membrana externa y una membrana citoplásmica) (Wallace y Brammall, 1985).

e) Existen diferentes compuestos químicos, que van a afectar el proceso de fermentación en el rumen y como consecuencia en el metabolismo y uso de los compuestos proteicos (Nagaraja et al., 1995).

2.2.4 Nitrógeno ureico sanguíneo (NUS) en rumiantes

La cantidad de N circulando por el torrente sanguíneo en forma de urea es conocido como NUS, cuyo origen es el metabolismo de los productos nitrogenados en los rumiantes (Wu,

2019). Generalmente el NUS es utilizado para evaluar el estado del N del alimento (Bach et al., 2005), además se utiliza como medida clínica de la función renal.

La cantidad de PC en el alimento está directamente correlacionados con la cantidad de NH_3 en el rumen y los niveles de NUS (Hess et al., 2000; Oltner y Wiktorsson, 1983), obteniendo una relación lineal positiva entre ambos factores (Firkins et al., 2010; Reynolds y Kristensen, 2008). Esto sucede porque el mayor nivel de proteína de rápida degradación ruminal conlleva a un incremento en la cantidad NH_3 , como resultado se observan niveles altos de NUS. Esta relación ha sido demostrada en cabras y ovinos (Woodward y Reed, 1997), llamas (Davies et al., 2007), vacas (Marini et al., 2008; Reynolds y Kristensen, 2008) y alpacas (Huamán et al., 2023).

Los factores que afectan los niveles de NUS están asociados con: a) la calidad de la proteína del alimento, b) la correspondencia entre la cantidad de energía disponible y los niveles de N en el alimento, c) las características de la producción, bajo un sistema de producción intensivo, existe abundancia de N y por ello la tasa de retención del N es bajo debido a una elevada producción de NH_3 (Leng y Nolan, 2010b), d) problemas fisiológicos como traumas, hemorragias, deshidratación, pérdida de electrolitos por graves vómitos y diarreas, problemas cardiacos e infecciones y reducción en la eliminación renal dado por trastornos renales (Van Saun, 2006); e) aumento del catabolismo de proteínas.

La concentración de NUS es proporcional a la urea en leche en vacas lecheras (Baker et al., 1995) y por lo tanto puede ser útil como predictor de la misma manera. Las diferencias en los valores predictivos para varias especies pueden proporcionar información sobre las diferencias en la utilización de N en estas especies (Kohn et al., 2005).

La investigación sobre NUS ha tomado importancia debido a los diversos problemas que pueden originarse por los altos niveles de NUS como son tasas de concepción reducidas, primer estro retrasado, problemas en la producción y en algunas circunstancias puede generar la muerte (Arias y Nesti, 1999). En muy pocos casos las concentraciones de NUS son bajas, algunas circunstancias como patologías hepáticas, mala alimentación, incremento en el consumo de energía soluble e incremento de la ingesta de agua (Van Saun, 2006) disminuyen los niveles de NUS.

Los estudios sobre NUS en CSA son escasos, sin embargo, la información disponible menciona que en alpacas al igual que en rumiantes el NUS responde a la cantidad de PC del alimento (Huamán et al., 2023), sin embargo, la particularidad es que cuando consumen dietas con bajo contenido de N los niveles de NUS son mayores (Kiani et al., 2015; Huamán et al., 2023) que en ovinos y cabras.

Así mismo, la evaluación del incremento de la cantidad de PC en el alimento sobre los niveles de NUS entre alpacas y ovinos muestra que las ovinos tienen un mayor incremento que el observado en alpacas a medida que la cantidad de PC del alimento se incrementa (Huamán et al., 2023), esto puede ser debido al mayor consumo de PC por las ovinos o a una mayor tasa de degradación de esta o una combinación de ambos factores.

La evaluación de NUS entre camélidos domésticos muestra que ambas especies presentan similares niveles con pastos de alta calidad (16.30 por ciento de PC) (Vivar et al., 2019), este comportamiento se mantiene cuando se evalúa alimentos con menor contenido de proteína cruda (9 y 12 por ciento) (Davies et al., 2007), la razón de estos resultados es que, en ambas especies, bajo circunstancias de alimentación con alimentos de alto contenido proteico no se verá en la necesidad de recuperar N y por ello los niveles de NUS serán solo influenciados por los del alimento y no de la recuperación (Rúa et al., 2017).

2.2.5 Requerimiento de proteína en camélidos sudamericanos

La determinación de las necesidades de proteína por los CSA ha recibido muy poca atención académica, mucha de la información disponible del tema se basa en un estudio donde se estimó, a través de la entrada y salida de N, las necesidades de mantenimiento. Se determinó que las necesidades de proteína y N digerible requeridos por las alpacas fueron de 2.38 g/Kg $PV^{0.75}$ y 0.38 g/Kg $PV^{0.75}$, respectivamente (Huasasquiche, 1974), a partir de este valor referencial se estimó muchas de las necesidades proteicas de los CSA.

Una particularidad de esta estimación es el menor requerimiento de PC de las alpacas respecto a las cabras, ovinos y vacunos (San Martín y Van Saun, 2014). La posible razón del menor requerimiento proteico en alpacas estaría dada por su mayor capacidad de recuperación del N y el uso de que le pueda dar a este N recuperado para la síntesis de proteína ruminal, en especial bajo condiciones de alimentación con pastos de baja calidad (Preston, 1966).

Utilizando esta información la información disponible, se estimó en 9 por ciento (NRC, 2007), el requerimiento para mantenimiento de PC en alpacas adultas y a partir de esta información se establecieron los demás requerimientos asumiendo información de cabras y ovinos.

2.3 Técnicas para medir la digestibilidad

La digestibilidad de los alimentos puede definirse como la “cantidad que no se excreta en las heces y que, por tanto, se considera absorbida por el animal, expresándose en relación con la materia seca como coeficiente o como porcentaje” (Mohamed y Abdul, 2008).

Diferentes son los métodos para evaluar la digestibilidad de los alimentos, los cuales pueden ser clasificados en biológicos y de laboratorio. Los métodos biológicos abarcan el uso de animales mediante la digestión de los alimentos *in vivo* o *in situ* mientras que los métodos de laboratorio (*in vitro*) simulan el ambiente y el proceso de digestión usando un inóculo con licor ruminal colectado de animales donadores.

2.3.1 Digestibilidad *in vitro* (Divt)

Las técnicas *in vitro* pueden clasificarse como i) métodos que miden la digestibilidad de los alimentos (Tilley y Terry, 1963; Goering y Van Soest, 1970); ii) métodos que miden la producción de gas a partir de la fermentación del alimento (Menke et al., 1979). Estas técnicas han sido validadas con valores *in vivo* (Van Soest, 1994) y se las considera casi como un estándar metodológico en rumiantes.

La mayoría de los métodos utilizados en la actualidad se basan en el propuesto por Tilley y Terry en 1963, el cual se le conoce como “*in vitro* en dos fases” porque consiste en someter al alimento a dos tratamientos consecutivos; es decir, dos fases, una fermentativa o biológica y otra química o enzimática.

En la fase biológica o fermentativa, las muestras de alimento finamente molidas se incuban en oscuridad por 48 horas en recipientes individuales cerrados en los que se busca simular las condiciones ruminales existentes en el animal (anaerobiosis, temperatura corporal, saliva, etc.) (Tilley y Terry, 1963). Dichas condiciones involucran la utilización de un inóculo, constituido por licor ruminal y una solución tamponada basada en la fórmula de la saliva sintética de McDougall (McDougall, 1948), saturado minuciosamente con CO₂

en una temperatura de 38-39°C, siendo agitado tres a cuatro veces por día (Tilley y Terry, 1963).

En la fase química o enzimática, también por 48 horas, dichas muestras son incubadas con pepsina en una solución de ácido clorhídrico (Tilley y Terry, 1963; Alexander y McGowan, 1966) o en una solución de fibra detergente neutro (Goering y Van Soest, 1970) para simular las condiciones existentes en el abomaso y el intestino delgado del rumiante que permitan la solubilización de la proteína que resiste el primer tratamiento (Tilley y Terry, 1963).

2.3.2 Digestibilidad *in vivo* (Div)

El método *in vivo* desarrollado el siglo pasado (Reynolds, 2000) sigue vigente hasta nuestros días y, a pesar de que no es posible cuantificar con este los compuestos endógenos excretados en las heces o la producción de metano eructado (Ortega, 1987), se le considera el método de referencia para estimar la digestibilidad aparente de un alimento.

Antes de ejecutar el método, los animales deben pasar por un periodo preliminar en el cual son alimentados con la dieta experimental con la finalidad de acostumbrarlos a la ración y asegurar que ningún resto de alimento consumido anteriormente permanezca en el tracto digestivo (Mc Donald et al., 1999). Este periodo preliminar, que varía de 3 a 10 días, es seguido de un periodo experimental que involucra la medición del consumo del alimento de composición conocida y la colecta total de heces excretadas en un periodo de tiempo.

La digestibilidad aparente de un alimento se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$DA \text{ (por ciento)} = \frac{\text{Ingestión de nutrientes} - \text{Nutrientes en las heces}}{\text{Ingestión de nutrientes}} \times 100$$

Aunque se le considera un método altamente confiable, la demanda de costo, tiempo y mano de obra no hace factible su uso para la evaluación rutinaria de forrajes.

2.3.3 Degradabilidad *in situ* (DIS)

La técnica de DIS o técnica *in sacco* tuvo su primer reporte en 1938 (Quin et al., 1938) y a partir de este momento la técnica ha venido siendo mejorada. La DIS involucra poner muestras a evaluar en bolsas de nylon, poliéster, dracon en el rumen de ovinos o vacas por un determinado periodo de tiempo, seguido de la determinación de la materia seca o proteína en el residuo (Mohamed y Chaudhry, 2008; Ørskov et al., 1980).

La técnica permite evaluar insumos alimenticios en un ambiente ruminal (pH, temperatura, CO₂), pero a diferencia de una situación normal el alimento no es sometido a la masticación y rumia, con el paso de los años, la técnica de la bolsa de nylon ha sido ampliamente utilizada para evaluar la degradabilidad ruminal de los forrajes, encontrándose que predice bien la digestibilidad *in vivo* (Ørskov, 2000) al ser evaluada a las 48 horas.

El protocolo consiste en extraer y pesar las bolsas a tiempos fijos (después de 0, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72 y 144 horas de incubación) para medir la desaparición progresiva de la materia, obteniéndose parámetros de la cinética de degradación ruminal (Ørskov y McDonald, 1979; Ørskov, 2000). La proporción de materia seca desaparecida es calculada a partir de la cantidad inicial incubada y el residuo de la bolsa luego de la incubación (Weiss, 1994).

La DIS no requiere material ni equipo sofisticado; sin embargo, es imprescindible el uso de animales fistulados que lleven cánulas ruminales permanentemente, lo que implica la necesidad de instalaciones, logística y mano de obra para alojarlos y mantenerlos, fuera de las dificultades para justificar su empleo ante los comités de ética. Aún con estas limitaciones, y con una adecuada estandarización de los factores de variación (Pedraza, 2001), el procedimiento es extremadamente útil para el estudio de la digestibilidad de los forrajes que se produce a nivel del rumen.

La reproducibilidad de los resultados de la DIS entre laboratorios es pobre debido a las diversas variaciones que pueden darse en las condiciones que se desarrolla la técnica. Los diversos factores que influyen en los resultados de la DIS pueden categorizarse en características del animal, características del sustrato, características de las bolsas, otros aspectos procedimentales (Vanzant et al., 1998).

- Los aspectos característicos del animal, se asocian a la dieta de los animales y el nivel de la alimentación.

- Respecto al sustrato, en primera instancia el tamaño de partícula de la muestra, el tipo de sustrato.
- Las características de las bolsas a utilizar toma importancia el tamaño del poro de la bolsa.
- Los aspectos procedimentales como la secuencia de introducción de las bolsas, la posición de estas dentro del rumen, el lavado, los tiempos de incubación, la pre incubación.

La dieta de los animales fistulados tiene un efecto importante sobre la tasa de degradación del material evaluado, se recomienda que se utilice alimentos fibrosos (60 a 70 %) y alimentos solubles, esto permitirá contar con una diversidad de microorganismos que permitan degradar los alimentos que se espera evaluar.

La preparación de la muestra para la DIS, es fundamental, ya que a medida que disminuye el tamaño de partícula, la desaparición de tanto MS como N será mayor. Las diferencias más grandes se obtienen durante las primeras horas de incubación. Se recomienda el uso de cribas entre 2.3 a 3.0 mm (Orskov, 2000), se recomienda el tamizaje de las muestras para separar el material de menor tamaño.

Respecto al tamaño del poro de la bolsa, está establecido que a medida que el tamaño del poro se incrementa la desaparición de MS y N se incrementa, sin embargo, esta desaparición está ligada a la pérdida de material. Tamaños de poro menores a 15 μm reduce la degradación por restricción de la colonización microbiana y diversidad (Huntington & Givens, 1997). Se sugiere que el tamaño de los poros este en alrededor de 40 a 50 μm , ya que poros más pequeños retardan el ingreso de microorganismos (Vanzant et al., 1998).

La importancia de la relación entre la cantidad de la bolsa y el tamaño de la bolsa, muestra que al incrementar la cantidad de muestra de 6.5 a 50 mg/cm^2 , disminuye la digestibilidad (Orskov, 2000), sin embargo, la influencia del peso de la muestra sobre la digestibilidad tiende a desaparecer cuando los periodos de incubación son mayores; en general se recomienda una relación de alrededor de 10 mg/cm^2 para forrajes (Vanzant et al., 1998), un aspecto a tomar en cuenta es el material residual necesario para posteriores análisis, en especial después de incubaciones de 48 a 72 h.

La secuencia en la introducción de las bolsas toma importancia, debido a que la introducción simultánea de todas las bolsas puede incrementar la variabilidad, especialmente cuando se estudia la tasa de degradación, es común que las bolsas se enreden entre sí dentro del rumen y se tenga que sacar todas las bolsas para sacar aquellas con periodos cortos de incubación, interrumpiendo temporalmente la fermentación en aquellas con periodos de tiempo de incubación más largos. Se sugiere introducir las bolsas a diferentes intervalos de tiempo de acuerdo con las horas de incubación y sacar todo el grupo al mismo tiempo (Nocek, 1988).

La regla general respecto a la posición de la bolsa en el rumen es que las bolsas se amarren a la cánula con un hilo de nylon de 25 cm en ovinos y de 50 cm en bovinos (Orskov, 2000), esto permite a las bolsas moverse libremente en las fases líquidas y sólidas del rumen.

El lavado de las bolsas es un factor importante, ya que es difícil aplicar el mismo tratamiento de lavado a todas las bolsas, cuando se sacan las bolsas en conjunto el lavado es más homogéneo, la sugerencia es que el lavado sea realizado haciendo uso de una lavadora con tiempos fijos para que todas las muestras de las diferentes corridas tengan el mismo tratamiento.

El tiempo necesario de incubación se ve influenciado por el material que se evaluará, por lo que el tiempo máximo ni los tiempos intermedios puede ser generalizado, sin embargo, es importante incluir suficientes observaciones en la parte más sensitiva de la curva de degradación y poner solo las necesarias que permitan describir bien la parte asíntota, que representa el potencial de degradación. En forma general se puede decir que los concentrados requieren de 12 a 36 h de incubación; henos, pajas y otros materiales fibrosos requieren más de 36 h., para forrajes tropicales los periodos de incubación deben ser superiores a 48 h (Orskov, 2000).

2.4 Ciclo circadiano

Como consecuencia de la rotación de la tierra sobre su eje, aproximadamente cada 24 h, muchos organismos del planeta son sujetos a fluctuaciones predecibles de luz y oscuridad, temperatura, disponibilidad de alimentos y depredación (Vaze y Sharma 2013), frente a esta situación las especies han desarrollado una respuesta biológica endógena que les permite anticiparse a estas variaciones diarias (Segal, 2004).

La respuesta biológica de los organismo es llamada ritmo circadiano, que es un fenómeno que se repite cada 24 h, aproximadamente, que se presenta en los organismos vivos y está presente en algún grado en casi todos los sistemas fisiológicos (Piccione y Caola, 2002). El responsable de esta respuesta es el reloj biológico, ubicado dentro del núcleo supraquiasmático (SCN) en el hipotálamo anterior, que es el responsable de la generación y mantenimiento de los ritmos circadianos en todo el cuerpo.

2.4.1 Mecanismo del ciclo circadiano

El sistema de sincronización circadiana de los mamíferos es una red organizada jerárquicamente de osciladores moleculares impulsados por un marcapasos central ubicado en el núcleo supraquiasmático (SNC) del hipotálamo. Este marcapasos central funciona de manera autosostenida, pero se reinicia cada día mediante la exposición a sincronizadores ambientales, principalmente el ciclo de luz/oscuridad (Bertolucci et al., 2008).

El mecanismo adaptativo que regula el ritmo circadiano puede ser de naturaleza endógeno, exógeno o ambos (Piccione et al., 2007), los ritmos circadianos están codificados genéticamente por un reloj molecular ubicado en casi todas las células que genera una sincronización interna de aproximadamente 24 horas en ausencia de señales externas.

La sincronización de los ritmos del individuo con el entorno externo probablemente optimiza la adquisición de recursos y al mismo tiempo minimiza los riesgos (por ejemplo, los animales buscan alimento en un nicho temporal que minimiza la exposición a sus principales depredadores). Por lo tanto, el sistema de sincronización circadiana proporciona anticipación de eventos ambientales y fisiológicos predecibles y orquesta cambios coordinados y temporalmente apropiados en la fisiología.

Funcionalmente, se cree que los ritmos circadianos brindan una ventaja importante al permitir que el organismo anticipe los próximos cambios ambientales (Piccione et al., 2003; Piccione y Caola, 2002).

2.4.2 Ciclo circadiano en animales de producción

En animales domésticos muchos procesos bioquímicos y fisiológicos exhiben ciclo circadiano, la influencia del ciclo circadiano sobre la crianza de animales influye sobre la salud y la fisiología, jugando un rol crítico en el crecimiento, reproducción, metabolismo y

calidad de los productos (Nikkhah, 2011) pudiendo ser una oportunidad para optimizar los sistemas de producción.

El ritmo circadiano ha sido descrito en diferentes especies (Piccione et al., 2007), incluyendo animales de granja (Piccione y Caola, 2002) existiendo reportes en ovinos (Piccione et al., 2006), cabras (Assenza et al., 2009), vacas (Lefcourt et al., 1999), caballos (Piccioni et al., 2005) y conejos (Piccione et al., 2007) para diversos metabolitos.

El ritmo circadiano ha sido reportado en las funciones hepáticas (Furukawa et al., 1999; Naguib et al., 1993), la información sobre el ritmo circadiano de determinadas funciones hepáticas exhiben una robusta ritmicidad diaria. La particularidad de esta ritmicidad muestra que los animales cuando permanecieron bajo ciclo de luz-oscuridad y con acceso al alimento una sola comida, esta ritmicidad desaparece cuando los animales carecían de comida, revelando que los procesos digestivos, no la alimentación, actúan como un reloj biológico interno circadiano en la concentración sanguínea de urea (Piccione et al., 2003).

2.4.3 Ciclo circadiano de la urea

La eficiencia en el uso del N por los rumiantes es baja, por ello, investigar diversos aspectos que influyan en su uso es una oportunidad para mejorar la eficiencia. En rumiantes, la recuperación de urea por la saliva es una importante fuente de N para la síntesis de proteína microbiana, la urea llega a la saliva de la circulación sanguínea y la urea en sangre presenta ciclo circadiano.

El ciclo circadiano del N en rumiantes ha recibido atención, existiendo información sobre la concentración de amoníaco en el rumen en vacas (Olmos Colmenero y Broderick, 2006), niveles de urea en sangre y saliva en ovejas (Piccione et al., 2006), urea en sangre y leche en vacas (Miettinen y Juvonen, 1990) y urea en suero y saliva en cabras (Assenza et al., 2009). Así mismo, los niveles de urea en leche y en plasma evaluando la proteína degradable y adición de grasa (Rodríguez et al., 1997).

La información muestra que en general los niveles de urea se incrementan rápidamente después del consumo de alimento estando fuertemente asociado a los momentos de disponibilidad de alimento, sin embargo, existe información que señala que los mayores niveles diarios en los niveles de urea en sangre no son solo debido a la respuesta directa a la alimentación, como se muestra en algunos estudios (Miettinen y Juvonen, 1990).

La evaluación de saliva y leche muestra una oportunidad para monitorear los niveles de urea como un método no invasivo para medir las variaciones diarias de las concentraciones de urea. Sin embargo, debemos considerar que los niveles de urea en la saliva son significativamente menores que en el suero. La urea sérica y salival se sintetiza en el hígado y su producción va a estar fuertemente asociada al consumo de N en el alimento.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los procedimientos que involucró el uso de animales fueron aprobados por el Comité de Ética y Bienestar Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (CEBA 2020 – 5) (Anexo 1).

3.1. Localización

Los estudios se llevaron a cabo en el bioterio del Laboratorio de Zootecnia y Producción Agropecuaria de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en el distrito de San Borja, en la provincia de Lima, Región Lima.

3.2 Ensayo I: Balance del nitrógeno dietario en alpacas y ovinos en función a diferentes niveles de consumo de nitrógeno

3.2.1 Animales

Se utilizaron cuatro alpacas Huacaya, macho, adultos, de 54 ± 5 kg de peso vivo y cuatro ovinos criollos, machos, adultos, de 42.4 ± 4 kg de peso vivo. Los animales fueron alojados en corrales individuales de 1.5 m x 1.2 m con piso emparrillado con comedero y bebedero.

3.2.2 Tratamientos

Los tratamientos evaluados fueron cuatro niveles de proteína cruda de 7.19, 10.56, 13.88 y 16.41 por ciento. Para la elaboración de la dieta de cada tratamiento se utilizaron como insumos, alfalfa molida, torta de soya, cascarilla de avena, maíz, coronta de maíz y un suplemento comercial de minerales y vitaminas (Cuadro 2). El alimento fue ofrecido *ad libitum* dos veces al día (8:00 am y 4:00 pm).

Cuadro 2: Ingredientes y composición química de dietas experimentales

	Tratamientos N dietario, g/100 g Materia			
	seca			
	1.15	1.69	2.22	2.63
Ingredientes, porcentaje MS				
Alfalfa molida	7	7	7	7
Torta de soya	0	10	20	30
Cascarilla de avena	45	45	45	45
Maíz	36	26	16	6
Coronta de maíz	11	11	11	11
Suplemento mineral vitamínico*	1	1	1	1
Composición química, porcentaje MS				
Materia seca	94.86	95.05	94.44	95.75
Materia orgánica	90.6	90.1	89.5	88.9
Proteína cruda	7.19	10.56	13.88	16.41
Fibra cruda	19.55	19.9	20.25	20.6
Extracto etéreo	1.54	1.62	1.65	1.73
Ceniza	9.4	9.9	10.5	11.1
Extracto libre de nitrógeno	62.32	58.02	53.72	50.16
FDN	69.84	68.56	67.89	67.11
Energía metabolizable (Mcal/kg)	1.92	1.96	2.01	2.05

*Suplemento mineral-vitamínico: Ca 22.8 por ciento, P 18.7 por ciento, Cl Na 5 por ciento, Mg 1.2 por ciento, S 0.20 por ciento, cobre 2000 ppm, cobalto 18 ppm, hierro 650 ppm, manganeso 900 ppm, zinc 2300 ppm, yodo 110 ppm, selenio 20 ppm, molibdeno 10 ppm, vitamina A 300000UI/kg, vitamina D3 50000UI/kg, vitamina E 0.1 mg/g.

3.2.3 Parámetros evaluados

Cada periodo de evaluación tuvo una duración de 15 días con dos fases, una de adaptación (12 días) y otra de evaluación (3 días). El día 12, los animales fueron trasladados a jaulas metabólicas.

Durante el periodo de evaluación se obtuvo la siguiente información:

Producción total de orina: para la colecta de orina se utilizó un beaker de 2 l, con suficiente H₂SO₄ para mantener el pH de la orina a menos de 2.5. La producción de orina se midió diariamente y una muestra se almacenó a – 20°C para la determinación de N.

Producción total de heces: Se colectó el total de heces y orina diariamente entre el día 12 al 15 a las 08:00 h, antes de ofrecer el alimento. Las heces fueron pesadas inmediatamente al igual que la producción de orina, una sub muestra (3 por ciento del total de heces y 4 por ciento del total de orina) fue congelada a – 20 °C para el subsecuente análisis.

Consumo de MS: fue determinado diariamente a través de la diferencia entre el alimento ofrecido y el rechazado durante cada periodo de estudio. Este fue determinado de forma individual tanto para alpacas como para ovinos.

Con la información obtenida se realizaron las siguientes determinaciones:

- Consumo de MS ajustado: el consumo de MS del alimento fue dividido entre el peso metabólico (peso vivo^{0.75}) de alpacas y ovinos.
- Consumo de N: se obtuvo del producto del consumo de MS por el contenido de N de cada dieta.
- Consumo de N ajustado: se obtuvo del producto de dividir el consumo de N de cada animal entre el peso metabólico.
- N fecal excretado: fue obtenido del producto de la cantidad de MS excretada en heces por el contenido de N de las heces.
- N fecal excretado ajustado: representa la cantidad de N excretado por Kg de peso metabólico.
- Digestibilidad aparente del N: se calculó a través de la siguiente ecuación:

$$DAN \text{ (por ciento)} = \frac{CDN - NDTH}{CDN} \times 100$$

Donde:

DAN: Digestibilidad aparente del nitrógeno (porcentaje)

CDN: consumo diario de nitrógeno (g)

NDTH: Nitrógeno diario total en heces (g)

- N urinario: se obtuvo del producto de la cantidad de orina diaria producida por la concentración de N (%).

- N urinario excretado ajustado: representa la cantidad de N excretado por kg de peso metabólico.

- Balance de nitrógeno: se determinó con la siguiente ecuación:

$$BN (\text{porcentaje}) = NI(-NH + NO)/NI$$

Donde:

BN: Balance de nitrógeno (porcentaje)

CDN: Nitrógeno ingerido (g)

NH: Nitrógeno en heces (g)

NO: Nitrógeno en orina (g)

- Retención de N ajustado: representa la cantidad de N retenido por kg de peso metabólico.

3.2.4 Análisis químico

Se determinó el contenido de materia seca de acuerdo a A.O.A.C. (1990) del alimento y las heces, secándose a 60 °C durante 48 h, hasta obtener peso constante, se molió con una criba de 1 mm y se almacenó en envases plásticos a temperatura ambiental.

El contenido de N del alimento, heces y orina fue determinado usando el método de Kjeldahl y la proteína cruda fue calculada como N x 6.25 (AOAC, 2007).

En la ejecución del trabajo no se realizó el análisis de los residuos de alimento que se ofrecieron debido a que los alimentos fueron peletizados y eso disminuyó la probabilidad de selectividad.

3.2.5 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño de sobrecambio, en un arreglo de dos cuadrados latinos de 4×4 , simultáneos (uno para alpacas y otro para ovinos), con cuatro individuos, cuatro tratamientos y cuatro periodos.

Los datos se analizaron mediante el procedimiento MIXED de SAS 9.2 (SAS Inst. Inc., Cary, NC) según el siguiente modelo:

$$Y = \mu + P + A + N + B + (N \times B) + E$$

Donde:

Y: es la variable dependiente, μ : es la media general, P: es el efecto del período, A: es el efecto del animal, N: es el efecto del nivel de N en la dieta, B: es el efecto de la especie (alpaca, ovino), $N \times B$ es la interacción entre nivel de N en la dieta y la especie, y E es el error residual.

El nivel de N en la dieta y la especie se consideraron efectos fijos, y el animal de experimentación y el período se consideraron efectos aleatorios. Se utilizaron contrastes polinomiales para el efecto del nivel de N así como para las interacciones especie \times nivel N para evaluar los efectos del tratamiento. Las comparaciones entre especie dentro de cada nivel de N en la dieta se realizaron utilizando pruebas t cuando al menos 1 contraste que evaluaba la interacción especie \times nivel de N en la dieta era significativo. Estas pruebas t se realizaron para asegurar que las interpretaciones de los contrastes fueran claras. Las diferencias se consideraron significativas en $P < 0.05$.

3.3 Ensayo II: Evaluación de los parámetros de degradabilidad *in situ* en alpacas y ovinos en forraje de diferente calidad

3.3.1 Animales

Se utilizaron tres alpacas machos adultos, de la raza Huacaya fistulados en el compartimento 1, con un peso promedio de 49 ± 2 kg, y tres ovinos machos adultos, criollos fistulados en el rumen, con un peso promedio de 26 ± 2 kg. Los animales fueron alojados en corrales individuales y estuvieron alimentados 30 días antes de iniciado el experimento con heno de alfalfa y afrecho de trigo (80:20 de la materia seca, respectivamente) a un plano de

mantenimiento. El alimento fue ofrecido dos veces al día en dos raciones iguales: a las 07.00 y 15.00 h. Todos los animales tuvieron acceso a agua limpia *ad libitum*.

3.3.2 Tratamientos

Se utilizó como forraje a evaluar avena (*Avena sativa*) variedad Vilcanota de tres (joven) y 16 (madura) semanas de crecimiento en estado de maduración cornea. Los diferentes tiempos de crecimiento del forraje estudiado permitieron evaluar el forraje con composición química contrastante.

El forraje fue cosechado, picado y secado a 60°C durante 48 h. Después del secado se molió utilizando un molino Willey (Arthur H. Thomas Co. Philadelphia, PA, USA) modelo estándar N° 3 usando criba de 2 mm y se procedió a tamizar las muestras con un tamiz N° 14 (1.41 mm).

3.3.3. Degradabilidad *in situ*

Para la degradabilidad *in situ* se utilizaron bolsas de dracón (ANKOM, Fairport, NY, USA; dimensiones internas: 10 x 7.5 cm; tamaño de poro: 53 μ m), las cuales previas a su uso fueron lavadas y secadas a 60 °C por 48 h, identificadas y enfriadas en un desecador y pesadas. En cada bolsa se colocó 3 g de forraje estableciendo una relación aproximadamente de 20 mg/cm². La bolsa se selló herméticamente usando un precinto de seguridad y se ató a un hilo de nylon de 35 cm de largo. Las bolsas con las muestras fueron remojadas en agua (39°C) durante 5 min e introducidas mediante apertura de la cánula al C1 y rumen de alpacas y ovinos, respectivamente.

Los forrajes fueron incubados a las 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48 y 72 h, el orden de colocación de las bolsas fue de acuerdo al tiempo de evaluación y fueron retiradas todas juntas. Después de retirar las bolsas del C1 y del rumen, estas fueron colocadas en agua helada para detener la digestión microbiana y luego se lavaron en una lavadora automática durante 10 minutos y fueron secadas durante 48 h a 60 °C hasta obtener un peso constante.

La degradabilidad de la materia seca (MS), de la fibra detergente neutro (FDN) y de la proteína cruda (PC) para cada tiempo de incubación se calculó mediante las siguientes fórmulas:

$$DMS \text{ (por ciento)} = \frac{MS \text{ en forraje} - MS \text{ en residuo}}{MS \text{ en forraje}} \times 100$$

Dónde:

DMS: degradabilidad de la MS

$$DFDN \text{ (por ciento)} = \frac{FDN \text{ en forraje} - FDN \text{ en residuo}}{FDN \text{ en forraje}} \times 100$$

Dónde:

DFDN: degradabilidad de la FDN

$$DPC \text{ (por ciento)} = \frac{PC \text{ en forraje} - PC \text{ en residuo}}{PC \text{ en forraje}} \times 100$$

Dónde:

DPC: degradabilidad de la PC

3.3.4 Análisis químico

La MS, ceniza, extracto etéreo y PC del forraje evaluado y del residuo se determinó de acuerdo a los procedimientos descritos por la AOAC (2007). Así mismo se determinó la FDN, la fibra detergente ácido (FDA) y hemicelulosa de los forrajes evaluados y la FDN de los residuos según los procedimientos descritos por Van Soest et al. (2010).

3.3.5 Cinética de digestión

Se determinaron los parámetros de la degradación para la MS, FDN y PC utilizándose el modelo de Orskov y McDonald (1979), según la fórmula $Y = a + b(1 - e^{-ct})$, donde Y: Degradabilidad de la materia seca en un tiempo t, porcentaje; a: Intercepto de la degradación cuando $t=0$ (degradabilidad inicial), porcentaje; Fracción soluble b, porcentaje; Fracción

insoluble potencialmente digerible; c, porcentaje; Tasa de degradación de b y t: Tiempo de incubación, h.

Los parámetros evaluados fueron:

- Fracción soluble (a): representa el sustrato soluble y completamente digestible que sale rápidamente de la bolsa.
- Fracción degradable (b): es la fracción insoluble potencialmente degradable por acción fermentativa de los microorganismos del rumen o del primer compartimiento estomacal.
- Tasa de degradación (c): es la cantidad de sustrato que puede ser degradada por unidad de tiempo.

3.3.6 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño factorial 2x2 completamente al azar, con dos especies (alpacas y ovinos) y dos tiempos de crecimiento de la avena.

Los parámetros del modelo de la digestión, fracción soluble (a), fracción degradable (b) y tasa de degradación (c) fueron analizados a través de un análisis de varianza para un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 2 x 2, evaluándose dos tiempos de crecimiento de la avena (joven y madura), dos especies (alpaca y ovino) y la interacción tiempo de crecimiento x especie. El modelo general lineal fue evaluado usando el procedimiento GLM de SAS/STAT™ (SAS Institute Inc., 2010). Para todas las pruebas estadísticas se usó un nivel de significación de 0.05.

3.4 Ensayo III: Ritmo circadiano de urea en sangre y saliva en alpacas y ovinos recibiendo dietas con diferentes niveles de proteína

3.4.1 Animales

Se utilizaron diez alpacas de raza huacaya (*Vicugna pacos*) (43 ± 2.3 kg, 36 meses de edad) y diez ovinos criollos (*Ovis aries*) (45 ± 3.1 kg, 28 meses de edad), todos machos, adultos, clínicamente sanos. Estos animales fueron mantenidos en corrales individuales acondicionados con comedero y bebedero.

3.4.2 Tratamientos

Los tratamientos evaluados fueron dos niveles de proteína cruda, una dieta alta en PC y otra baja en PC, la dieta con alta PC fue superior al requerimiento de mantenimiento y la dieta con baja PC fue inferior al requerimiento de mantenimiento para alpacas (NRC, 2007). Para la elaboración de la dieta de cada tratamiento se utilizaron como insumos cascarilla de avena, heno de alfalfa molido y una premezcla de minerales y vitaminas. Las proporciones que se utilizaron de cada insumo se presenta en el Cuadro 3. El alimento fue ofrecido *ad libitum* dos veces al día (8:00 am y 4:00 pm) ofrecido en partes iguales.

Cuadro 3: Ingredientes y composición química de dietas experimentales con alto y bajo contenido de proteína cruda (PC)

	Baja PC	Alta PC
Ingredientes por ciento		
Harina de alfalfa	27	99
Paja de avena	72	0
Suplemento mineral-vitamínico*	1	1
Nutrientes, por ciento de materia seca (MS)		
Materia seca	92.0	91.0
Materia orgánica	82.4	81.6
Proteína cruda	07.1	16.2
Fibra cruda	34.7	24.4
Extracto etéreo	01.7	01.5
Ceniza	17.6	18.4
Extracto libre de nitrógeno	38.9	39.5

*Suplemento mineral-vitamínico: Ca 22.8 por ciento, P 18.7 por ciento, Cl Na por ciento, Mg 1.2 por ciento, S 0.20 por ciento, cobre 2000 ppm, cobalto 18 ppm, hierro 650 ppm, manganeso 900 ppm, zinc 2300 ppm, yodo 110 ppm, selenio 20 ppm, molibdeno 10 ppm, vitamina A 300000UI/kg, vitamina D3 50000UI/kg, vitamina E 0.1 mg/g.

3.4.3 Muestreo

El ensayo de alimentación incluyó un periodo de 17 días, con 15 días para la etapa de acondicionamiento a la dieta y 2 días de colección de muestras.

Las muestras de saliva y sangre fueron colectadas cada 4 h por dos días consecutivos (iniciándose a las 08:00 h). Para la obtención de las muestras de sangre se instaló un catéter en la vena yugular el día 14 a las 14:00 h y se removió el día 17 a las 08:00 h. Las muestras de sangre se colectaron en tubos para extracción de sangre vacutainer® y almacenados en refrigeración hasta su centrifugado. El suero fue separado por centrifugación a 1500 g por 10 min y transferido a viales para su almacenamiento a - 20°C hasta su análisis.

Las muestras de saliva fueron colectadas a través de una esponja de 3x3x2 cm adosada a una cinta nylon, introducidas en la cavidad bucal, encima de la lengua y los animales fueron estimulados a masticar por 1 a 2 minutos. Para recuperar la saliva se procedió a exprimir la esponja (1 a 2 ml) y se centrifugó a 2000 g por dos minutos y el sobrenadante fue inmediatamente congelado a -20 °C hasta su análisis.

3.4.4 Análisis de laboratorio

La urea en suero y en saliva fue analizada con un kit estándar (Fawcett & Scott, 1960) por medio de un espectrofotómetro UV Genesis 150 Thermo scientific. El kit de urea está basado en la utilización de la ureasa que cataliza la hidrólisis de urea en dióxido de carbón y amonio, lo que, ante la presencia de nitroprusiato de sodio, reacciona con hipoclorito de sodio y salicilato de sodio para formar 2.2 de dicarboxy-indofenol. Este componente de color verde es de definición colorimétrico y es proporcional a la concentración de urea en la muestra.

3.4.4 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño factorial 2x2 completamente al azar, con dos especies (alpacas y ovinos) y dos niveles de PC.

Los datos fueron distribuidos normalmente ($p < 0.05$, test de Kolmogorov- Smirnov). Los datos fueron analizados por el modelo paramétrico Cosinor (Cornelissen, 2014) que es el modelo que mejor se ajusta a la curva sinusoidal. Este modelo utiliza los mínimos cuadrados para evaluar la bondad de ajuste del modelo.

Tres parámetros fueron calculados, el MESOR (ritmo medio ajustado), la amplitud (máximo o mínimo valor de la media) y la acrofase (tiempo del máximo o mínimo valor).

El modelo de análisis Cosinor fue:

$$Y(t) = M + A \cos (2\pi t/\tau + \Phi) + e(t)$$

Dónde: M es el MESOR, A es la amplitud, τ es el periodo, Φ es la acrofase y $e(t)$ es el error.

Se realizó un análisis de varianza para cada parámetro del modelo Cosinor. El modelo matemático utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + E_i + PC_j + E * PC + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} es la variable dependiente, μ es la media, E_i es el efecto de la especie (alpaca, ovino), PC_j es el efecto del nivel de proteína (alto, bajo), $E*PC$ es la interacción de la especie con el nivel de proteína y e_{ijk} es el error.

Se realizó un análisis de regresión lineal entre urea en suero (variable independiente) y urea en saliva (variable dependiente) tanto en alpacas como en ovinos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Ensayo I: Balance del nitrógeno dietario en alpacas y ovinos a diferentes niveles de consumo de nitrógeno en la dieta

La formulación de las dietas utilizadas en este ensayo busco generar alimentos que representen la realidad de la pastura natural. Así, la dieta con menor contenido de N simuló el nivel de N de la pastura natural durante la época de seca y las otras dietas las variaciones de la pastura natural durante el año hasta llegar a la dieta con mayor contenido de N que represente el nivel de N de la pastura natural durante la época de lluvia. Así mismo, se formularon dietas con similar composición química y solo existió variación en el contenido de N.

4.1.1 Consumo de materia seca y nitrógeno

El consumo de MS y de N expresado como cantidad por individuo, porcentaje del peso vivo y peso metabólico, se presenta en los Cuadros 4 y 5, siendo mayores ($P < 0.05$) en ovinos e incrementándose de forma lineal ($P < 0.05$) como efecto del nivel del N en la dieta. El menor consumo de alimento observado en alpacas es una característica propia de la especie, que ha sido reportada previamente (San Martín y Bryan, 1989). Este menor consumo está asociado al mayor tiempo de retención del alimento por las alpacas y al menor requerimiento de mantenimiento de las alpacas frente a las ovinos (NRC, 2007).

Cuadro 4: Efecto del nivel de nitrógeno en la dieta sobre la digestibilidad de N en alpacas y ovinos

Parámetro		N dieta, g/100 g MS				CM	E	Contraste*			
		1.15	1.69	2.22	2.63			E x N	L	C	Q
Consumo de MS (g/d)	Alpaca	992	1196	1240	1361	37677	<0.05	0.81	<0.05	0.79	0.82
	Ovino	1654	1700	1797	1851						
Consumo de MS (porcentaje PV)	Alpaca	1.83	2.25	2.35	2.61	0.19	<0.05	0.89	<0.05	0.85	0.83
	Ovino	3.91	4.03	4.25	4.40						
Consumo de N (g/d)	Alpaca	11	19	26	35	15	<0.05	0.48	<0.05	0.67	0.86
	Ovino	19	27	37	47						
Consumo de N (porcentaje PV)	Alpaca	0.02	0.04	0.05	0.07	0.00	<0.05	0.11	<0.05	0.66	0.88
	Ovino	0.04	0.06	0.09	0.11						
N en heces (g/d)	Alpaca	4.36	5.94	6.08	6.21	1.88	<0.05	0.45	0.31	0.32	0.48
	Ovino	8.59	9.08	8.45	8.42						
Digestibilidad del N (por ciento)	Alpaca	60.78	68.64	76.28	82.14	6.24	0.33	0.53	<0.05	0.28	0.91
	Ovino	53.85	66.62	77.35	82.43						

*E (Alpaca, ovino), Ex N (interacción especie y nivel de N), L (efecto lineal de la dieta), C (efecto cuadrático de la dieta) y Q (efecto cubico de la dieta).

Cuadro 5: Efecto del nivel de nitrógeno en la dieta en el balance de N en alpacas y ovinos (g/d/kg PV^{0.75})

Parámetro		N dieta, g/100 g MS				Contraste,					
		1.15	1.69	2.22	2.63	CM	E	E x N	L	C	Q
Consumo de MS ajustado	Alpaca	50	61	63	70	116	<0.05	0.86	<0.05	0.82	0.82
	Ovino	100	103	108	112						
Consumo de N ajustado	Alpaca	0.56	0.97	1.31	1.79	0.05	<0.05	0.13	<0.05	0.64	0.87
	Ovino	1.12	1.64	2.25	2.87						
N en heces excretado	Alpaca	0.21	0.30	0.31	0.32	0.006	<0.05	0.45	0.32	0.36	0.44
	Ovino	0.48	0.47	0.46	0.50						
N urinario excretado	Alpaca	0.15a	0.30ab	0.53bc	0.83c	0.01	<0.05	<0.05	<0.05	0.30	0.24
	Ovino	0.28ab	0.75c	1.28d	1.42d						
Balance de N	Alpaca	0.19	0.37	0.47	0.93	0.03	0.13	0.36	<0.05	0.10	0.49
	Ovino	0.31	0.34	0.57	0.94						
Retención de N (por ciento)	Alpaca	33.05	37.10	35.80	35.05	57.12	<0.05	0.19	0.51	0.18	0.71
	Ovino	28.41	20.37	20.55	32.14						

*E (Alpaca, ovino), E x N (interacción especie y nivel de N), L (efecto lineal de la dieta), C (efecto cuadrático de la dieta) y Q (efecto cúbico de la dieta).

El menor consumo de MS observado, tanto en alpacas como en ovinos, al nivel más bajo de N, es explicado por la depresión que sufre el consumo con dietas de bajo contenido de N (Forbes, 2007). Cuando la dieta es deficiente en N la actividad microbiana disminuye (Faverdin, 1999) y la fermentación ruminal juntamente con el rango de digestión y el pasaje del alimento (Conrad et al., 1977), disminuyendo el consumo de alimento. El incremento lineal del consumo de alimento por efecto del incremento del contenido de N de la dieta, se pudo haber dado debido a que los microorganismos disponían del N necesario para incrementar su actividad y con ello la fermentación produciéndose una digestión más rápida y completa del alimento, evitando el llenado del rumen y, por lo tanto, un aumento en la ingesta de alimentos (Forbes, 2007).

El incremento en el consumo de alimento en alpacas ha sido reportado a diferentes incrementos de PC en la dieta, observándose incrementos cuando la PC del alimento se incrementó de 9.9 a 12 por ciento (Davies et al., 2007), de 2.6 a 17.8 por ciento (Fugal et al., 2013) y de 4 a 16 por ciento de PC (Robinson et al., 2005). Sin embargo, los resultados reportados en estos estudios están asociados no solo a incremento en el contenido de PC sino también a la composición del alimento, existiendo variaciones en los niveles de FDN y otros componentes que pudieron haber afectado el mayor consumo de alimento. En nuestro estudio se proporcionaron dietas en las cuales el único parámetro con significativa diferencia fué el nivel de N de cada dieta y el resto de características de los alimentos fueron similares.

Los valores de consumo de MS observados en alpacas fueron mayores a los reportados en la literatura (San Martín y Bryant, 1989), la razón puede estar relacionada a los insumos utilizados en la elaboración de las dietas que evaluamos, con un contenido menor de 70 por ciento de FDN, y a que estos insumos estuvieron molidos ya que se conoce que las partículas pequeñas pasan más rápido que las partículas grandes (San Martín, 1987), por ello explicando el mayor consumo en alpacas.

4.1.2 Excreción de N

La excreción de N en heces expresada por individuo y por kg de $PV^{0.75}$, se presenta en los Cuadros 8 y 9, se observa que la excreción de N en heces fue mayor ($P < 0.05$) en ovinos, no observándose diferencias ($P > 0.05$) por efecto del consumo de N en la dieta. La mayor excreción de N en las heces de los ovinos puede deberse al mayor consumo de N, así como a una menor digestibilidad de la proteína microbiana en el intestino delgado de los ovinos o

a una mayor excreción de N endógeno, ya que el N fecal está compuesto por el N indigerible alimenticio, N microbiano y del N endógeno y este último está fuertemente asociado a la cantidad de FDN consumida.

La similar excreción de N en heces a diferentes niveles de N en la dieta, tanto en alpacas como en ovinos, muestra que el N en heces no varía de acuerdo al nivel de N de la dieta (Marini et al., 2004) y a los niveles similares de FDN en cada una de las dietas experimentales. El mismo comportamiento de la excreción de N en heces a diferentes niveles de N en la dieta fue observado en alpacas (Fugal et al., 2013) y llamas (Robinson et al., 2005a), sin embargo, existen reportes que observaron incrementos en los niveles de N en heces de acuerdo al nivel de N en la dieta (Robinson et al., 2005b, Davies et al., 2007), pudiendo estos resultados estar asociados a la calidad nutricional de las dietas utilizadas, en especial al contenido de N digestible y la concentración de FDN.

Los resultados de la excreción de N en orina se presentan en los Cuadros 8 y 9, este fue mayor ($P < 0.05$) en ovinos a mayores niveles de N en dieta y las menores ($P < 0.05$) excreciones se observaron en alpacas y ovejas a los menores consumos de N en la dieta. Se observó un incremento ($P < 0.05$) lineal del N en orina de acuerdo al nivel de N en la dieta, tanto en ovejas como en alpacas.

La menor excreción de N observada, tanto en alpacas como en ovinos con dietas con bajo contenido de N, pudo ser debida a que los rumiantes y alpacas con dietas de bajo contenido proteico reciclan urea y al menor consumo de alimento con dietas bajas con N, tanto por la saliva como por las paredes del rumen y del C1, permitiendo al animal contar con la cantidad de N necesario para la síntesis proteica y, por tanto, asegurar el mantenimiento del animal hospedador (Mc Donald *et al.*, 1999). La capacidad de reciclar N disminuye a medida que se incrementa el nivel de N en la dieta, sin embargo, en alpacas esta disminución pudo haber sido menor por ello observamos mayor contenido de N en la orina de los ovinos.

El incremento de la excreción de N en orina, de forma lineal, debido a un incremento de N en la dieta, tanto en alpacas y ovinos, es una respuesta observada en diversas especies (Kulling et al., 2001; Hristov y Jouany, 2005), la razón puede ser que el incremento de N en la dieta hace que la producción de NH_3 sea mayor y al metabolizarse a urea se observan niveles elevados de NUS y esta urea no es reciclada siendo excretada por la orina. La recuperación del N por la sangre y saliva disminuye a medida que se incrementan los niveles

de N en la dieta y se incrementa la excreción de N en orina (Reynolds y Kristensen, 2008), tal como se observó en el presente estudio.

4.1.3 Digestibilidad de N

Respecto a la digestibilidad del N (Cuadro 8), no se observaron diferencias ($P > 0.05$) entre alpacas y ovinos, incrementándose de forma lineal ($P < 0.05$) tanto en alpacas como en ovinos de acuerdo al nivel de N de la dieta.

Las características anatómicas y fisiológicas digestivas de los CSA les posibilita ser más eficientes en el uso de la fibra con forrajes de calidad disminuida (altos en fibra y bajo contenido de N), sin embargo, para la digestibilidad del N estas características no influyeron, la razón de estos resultados podría ser que la mayoría de bacterias presentes en el rumen o en el C1 presentan enzimas proteolíticas y no se vieron afectadas por la cantidad de N disponible.

Similares resultados para la digestibilidad del N han sido reportados entre alpacas y ovinos (Pinares-Patiño et al., 2003 y Lund, 2012) a niveles mayores de 10 por ciento de PC, así como al comparar diferentes forrajes entre llamas y cabras (Robinson et al., 2005) a niveles entre 10 a 20 por ciento de PC, sin embargo, son limitados los estudios que comparan la digestibilidad del N a niveles inferiores a 10 por ciento.

La mayor digestibilidad del N observada a medida que se incrementó el nivel de N en la dieta, tanto en alpacas como en ovejas, puede estar relacionada con que a niveles bajos de N las bacterias no pueden degradar el N ligado a la fibra y este se incrementa a medida que se incrementa el nivel de N en la dieta, debido a la mejora de la actividad microbiana. Generalmente un menor consumo de N conduce a modificaciones en la digestión ruminal, debido a adaptaciones que se producen en el rumen, como la tasa de recambio de la fase líquida y sólida en el tracto digestivo (Colucci et al., 1990), cambios en la población microbiana o modificaciones en las paredes ruminales como la capacidad de absorción o actividad metabólica (Fell y Weekes, 1975). Un aspecto que también puede estar relacionado al mayor consumo observado es que es probable que parte del incremento de la digestibilidad del N se deba a la dilución del N fecal metabólico que se excreta en proporción al mayor consumo de alimento (Spanghero y Kowalski, 2021).

La información sobre digestibilidad del N en alpacas observada fue inferior a la existente para la especie (Davies et al., 2007, Lund, 2012, Fugal et al., 2013), la razón puede ser debido los diferentes insumos utilizados en los otros experimentos y los insumos utilizados en la elaboración de las dietas que evaluamos. La principal fuente de N que usamos fue la torta de soya que tiene un contenido de N altamente soluble y en este tipo de estudios con alpacas utilizaron forrajes, que pudieron haber tenido N ligado a la fibra y por ello el ambiente digestivo degradado en menor medida que en nuestro estudio.

4.1.4 Balance de N

El balance del N por peso metabólico se presenta en el Cuadro 9, se observa que no presentó diferencias ($P>0.05$) entre alpacas y ovinos, incrementándose de forma lineal ($P<0.05$), tanto en alpacas como en ovinos, de acuerdo al nivel de N en la dieta. Similares resultados entre alpacas y ovejas, han sido reportados (Pinares-Patiño et al., 2003 y Lund, 2012), mientras que comparaciones entre llamas y cabras (Robinson et al., 2005) muestran que las cabras retienen más N con alimentos de diferentes concentraciones de N, a su vez comparaciones entre llamas y alpacas muestran que tienen similares niveles de retención de N (Davies et al., 2007).

Respecto al incremento en la retención de N debido a un incremento en el consumo de N, tanto en alpacas como en ovinos, coincide con lo reportado en yaks (Guo et al., 2012, Zhou et al., 2017), vacas (Marini y Van Amburgh, 2003; Zhou et al., 2017) y ovinos (Zhou et al., 2015), al respecto, se menciona que la retención del N está fuertemente asociada a la cantidad de energía disponible (ARC, 1980), lo que podría estar relacionado a que la energía de las diferentes dietas no fue limitante para la retención de N.

El NH_3 es el producto final del catabolismo de la PC en rumen y también es el principal sustrato para la síntesis de proteína microbiana, por ello para lograr una eficiencia del uso del N y limitar la excreción de compuestos nitrogenados (Hristov y Jouany, 2005) se debe optimizar su uso. El incremento del N en las dietas evaluadas pudo haber incrementado la concentración de NH_3 y la energía disponible para los microorganismos ruminales (Hristov y Jouany, 2005), observándose los beneficios de sincronizar el rango de degradación de los carbohidratos y la proteína en el rumen. Es lógico esperar una máxima eficiencia en la utilización de energía y proteína para el crecimiento microbiano mejorando la conversión

alimenticia, reduciendo la absorción de NH_3 y reduciendo la excreción de N al medio ambiente.

Respecto a la retención del N (Cuadro 9), esta fue mayor (<0.05) en alpacas y no existió diferencia (>0.05) entre los diferentes niveles de N evaluados en la dieta. La eficiencia de las alpacas pudo estar asociada a su menor excreción de N en la orina, presumiblemente debida a un mayor rango de filtración glomerular, reabsorción de N por los túbulos renales (Grimaud y Doreau, 1995) y al recambio renal del N que está relacionado al consumo de alimento (Cirio y Boivin, 1990), sumado a las características digestivas propias de la especie y a las características de los microorganismos que puedan estar presentes en el C1 que tienen influencia en la eficiencia del uso de N en rumiantes (Gomes et al., 2021).

El reciclaje de N es un mecanismo de vital importancia para los rumiantes en condiciones de alimentos de baja calidad, este les permite disponer de N para los microorganismos y con ello utilizar los alimentos de baja calidad, este reciclaje se incrementa de 47 a 86 % en camélidos cuando la proteína del alimento disminuye de 13.6 a 6.1 %. En llamas alimentadas con alto nivel de energía, pero bajo nivel de proteína el rango de reciclaje de urea puede llegar a 95 %. En llamas con el mismo nivel de energía, pero diferentes niveles de proteína, animales con bajo nivel de PC usan 78% de urea reciclada pero cuando los animales tienen una dieta adecuada en PC usa solo el 10% de urea reciclada.

La retención del N por las alpacas fue superior a la información existente para la especie (Pinares-Patiño et al., 2003 y Lund, 2012, Davies et al., 2007, Robinson et al., 2005), esta mayor eficiencia pudo estar relacionada a los insumos utilizados ya que en el estudio utilizamos insumos altamente degradables y los demás estudios utilizaron forrajes con altos niveles de fibra que pudieron haber influido en los resultados.

4.2 Ensayo II: Evaluación de los parámetros de degradabilidad *in situ* en alpacas y ovinos en forraje de diferente calidad

4.2.1 Análisis químico del forraje evaluado

La composición química del forraje evaluado se presenta en el Cuadro 6, se observa que la avena con menor tiempo de crecimiento tiene mayor nivel de proteína cruda (PC), extracto libre de nitrógeno y ceniza y menores niveles de fibra cruda, materia orgánica, FDN, hemicelulosa y fibra detergente ácida. La composición química de los forrajes evaluados fue

similar al heno y paja de avena de las tablas de composición de la (NRC, 2007), con respecto a la avena joven y madura, respectivamente.

Cuadro 6: Composición química (porcentaje) de los forrajes evaluados

	Avena tres semanas	Avena 16 semanas
Proteína cruda	11.60	5.17
Fibra cruda	19.36	42.38
Extracto etéreo	0.83	1.22
Ceniza	8.81	5.82
Extracto libre de nitrógeno	59.40	45.41
Materia orgánica	91.19	94.18
FDN*	38.79	71.41
FDA**	16.79	40.47
Hemicelulosa	22.00	30.94

*FDN fibra detergente neutro, **FDA fibra detergente ácido.

Los resultados obtenidos corroboran la información de que el tiempo de crecimiento es el principal factor que determina la calidad y la composición química de los forrajes (Stirling *et al.*, 2021), disminuyendo la calidad nutricional con el avance de la madurez. Estos cambios en la composición química de los forrajes por efecto del tiempo de crecimiento se deben a aspectos anatómicos propios de las plantas siendo la maduración de las hojas el primer responsable para la disminución de la PC en las plantas (Merchen y Bourquin, 1994).

4.2.2 Modelo de degradabilidad

En las figuras 5, 6 y 7, se presentan las curvas de degradabilidad de la MS, FDN y la PC en alpacas y ovinos para la avena a diferentes tiempos de crecimiento. La ecuación propuesta por Oskorv y Mc Donald (1979) proporcionó un buen ajuste de los datos con coeficientes de determinación superiores a 0.9. Esto sugiere que los patrones de degradación propuestos por estos autores para rumiantes también son apropiados para las alpacas. Este modelo también ha sido utilizado con éxito por diferentes autores en llamas (Genin y Tichit, 1997) y alpacas (Cordero *et al.*, 2018, Stevens *et al.*, 2014, Nilsen *et al.*, 2014, Robinson *et al.*, 2016).

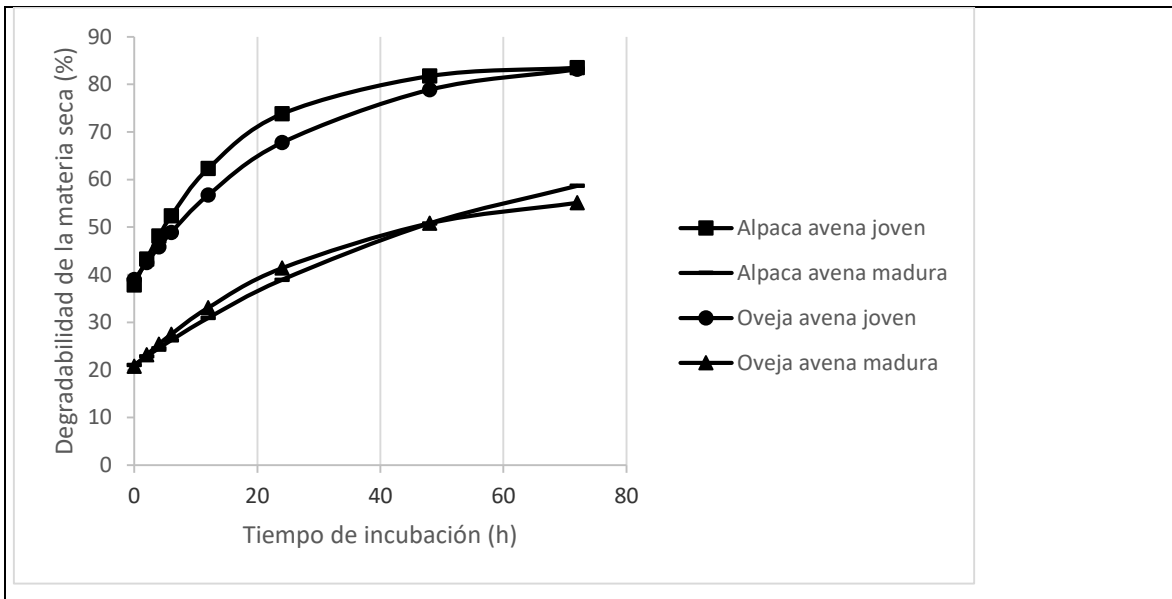


Figura 3: Curva de degradabilidad de la materia seca

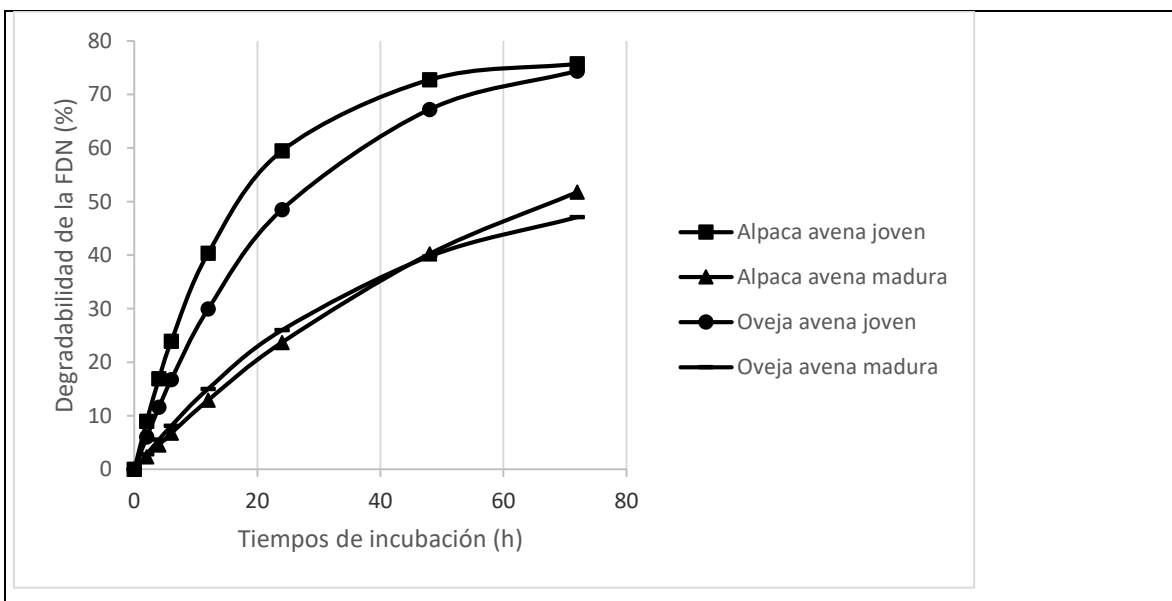


Figura 4: Curva de degradabilidad de la fibra detergente neutro

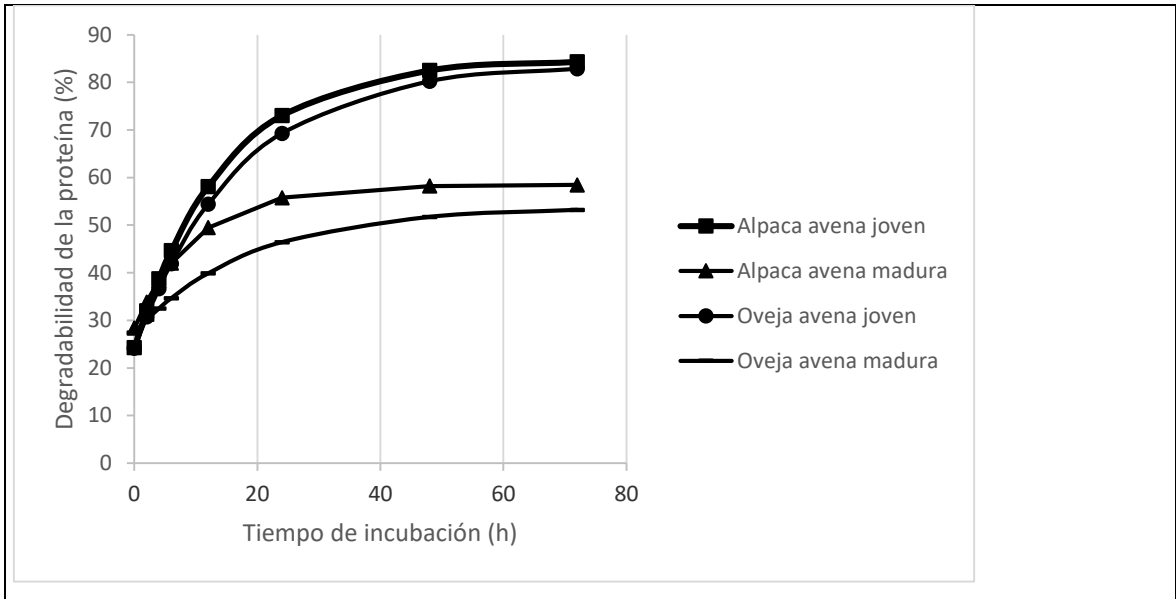


Figura 5: Curva de degradabilidad de la proteína cruda

4.2.3 Parámetros de la degradabilidad *in situ* de la materia seca

Los parámetros de la degradabilidad de la MS se presentan en el Cuadro 7, la fracción soluble (a) solo fue afectada por el tiempo de crecimiento ($P < 0.01$) de la avena, no se observaron diferencias entre especies ($P < 0.94$). La fracción degradable (b) presentó interacción ($P < 0.01$) entre el tiempo de crecimiento y la especie, observándose que fue menor ($P < 0.05$) para la avena madura en ovinos y no existieron diferencias ($P > 0.05$) entre avena joven y madura en alpacas y avena joven en ovinos. Respecto a la tasa de degradación (c) presentó interacción ($P < 0.02$) entre el tiempo de crecimiento y la especie, observándose que fue mayor ($P < 0.05$) para la avena joven en alpacas y no existieron diferencias ($P > 0.05$) entre forraje maduro en alpacas y el forraje joven y maduro en ovinos.

Cuadro 7: Parámetros de degradabilidad de la materia seca

	Alpaca		Ovino		CME	Contraste		
	Avena joven	Avena madura	Avena joven	Avena madura		Tiempo de crecimiento	Especie	T x Es*
a (porcentaje)	37.8	21.1	38.8	20.7	33.29	<0.01	0.92	0.85
b (porcentaje)	46.9ab	53.3a	49.6a	38.6b	15.02	0.34	0.03	<0.01
c (h ⁻¹)	0.06b	0.02a	0.04ab	0.03a	0.0001	<0.01	0.36	0.02

*Interacción tiempo de crecimiento y especie.

La fracción soluble (a) del forraje está influenciada solo por el lavado de las bolsas sin incubación en el rumen o C1, esta degradabilidad comprende dos componentes, el primero la pérdida de compuestos solubles y el segundo la pérdida de partículas pequeñas (Huntington, 1997). En este estudio se tuvo mucho cuidado con el tamaño mínimo de las partículas, siendo estas muy superiores al tamaño del poro de la bolsa, por ello la degradabilidad inicial estuvo fuertemente asociada a la solubilidad del forraje evaluado.

La mayor fracción soluble observada en la avena joven se debió a que el contenido de compuestos solubles como ELN (Liu y Mohamed, 2015) fue superior en la avena joven y que a medida el tiempo de crecimiento aumenta el contenido de compuestos solubles disminuye incrementándose el contenido de los componentes estructurales (pared celular) y la declinación de la proporción hojas y tallos (Kabufa y Oarko, 1993).

Respecto a la fracción degradable de la MS (b), las alpacas mostraron el mismo comportamiento con el forraje de ambos tiempos de crecimiento, lo que no ocurrió con los ovinos que tuvieron una menor fracción degradable de la MS con la avena madura, las razones para este resultado son explicados porque las alpacas tienen una eficiencia superior en la utilización de los forrajes de baja calidad que los ovinos (San Martín y Van Saun, 2014) y esta mayor eficiencia de la alpaca desaparece cuando los forrajes son de alta calidad tal como se observa en estos resultados.

Cuando se realizan comparaciones de la eficiencia digestiva con alimentos de baja calidad entre alpacas y ovinos esta es mayor en las alpacas (San Martín y Van Saun, 2014), y podrían ser explicadas por la alta actividad celulítica de las bacterias presentes en el C1 producto de una mayor estabilidad del pH del C1 debido a la relación existente entre la producción de saliva y el volumen estomacal, así como, la existencia de los sacos glandulares en el C1 que secretan bicarbonato alcalinizando el ambiente y que permiten una rápida remoción de AGV (Vallenas y Stevens, 1971b). A esto se debe sumar la mayor actividad del estómago debido a la alta contractibilidad que permite un mejor mezclado del contenido del C1 (Gregory et al., 1985). Todos estos factores explicarían estos resultados, descartando el tiempo de retención que no interviene en este estudio como factor condicionante de la mayor eficiencia digestiva (San Martín, 1987).

El efecto del tiempo de crecimiento del forraje en la fracción degradable es atribuido a que a medida que incrementa la madurez de la planta, la calidad para animales rumiantes decrece

debido a un incremento en la concentración de las paredes celulares, reducción en los niveles de proteína cruda (Sun et al., 2010) y disminución de la relación hojas y tallos (Kabufa y Caoarko, 2002).

4.2.4 Parámetros de la degradabilidad *in situ* de la fibra detergente neutra (FDN)

Los parámetros de degradabilidad de la FDN de los forrajes estudiados se presentan en el Cuadro 8. No se observaron diferencias ($P < 0.05$) para la fracción soluble (a). En la fracción degradable (b) hubo efecto de interacción ($P < 0.04$) entre la edad de crecimiento del forraje y especie. Los ovinos tuvieron la menor fracción degradable (b) en el forraje maduro y no se observaron diferencias en alpacas con avena joven y madura y ovinos con avena joven. La tasa de degradación (c) de la FDN fue mayor ($P < 0.01$) en el forraje de menor tiempo de crecimiento y no se observaron diferencias ($P < 0.05$) entre alpacas y ovinos.

Cuadro 8: Parámetros de degradabilidad de la fibra detergente neutra

	Alpaca		Ovino		CME	Contraste		
	Avena joven	Avena madura	Avena joven	Avena madura		Tiempo de crecimiento	Especie	T x Es*
a (porcentaje)	0.00	0.00	0.0	0.0	0.00	0.58	0.13	0.58
b (porcentaje)	82.3a	78.3a	88.10a	56.67b	97.74	0.02	0.20	0.04
c (h ⁻¹)	0.05	0.02	0.03	0.03	0.0001	0.01	0.54	0.09

*Interacción tiempo de crecimiento y especie.

La fracción soluble de la FDN (a) muestra que el efecto del tamizado al que fueron sometidas las muestras previamente fue efectivo y no hubo pérdida de partículas. La FDN consta de dos fracciones una indigestible y otra potencialmente digestible (Bender, 2013), la potencialmente digestible desaparece en el rumen o C1 ya sea por la digestión microbiana o por el pasaje de estos compartimentos, al respecto el tener las muestras partículas más grandes al tamaño del poro de la bolsa y no estar en contacto con las bacterias no hubo pérdida de material (Oskorv, 2020).

La menor degradabilidad de la fracción degradable (b) de la FDN en la avena madura en ovinos, fue similar a lo observado con la degradabilidad de la MS (Cuadro 6), las explicaciones de estos resultados ya fueron expuestas en párrafos anteriores.

Los resultados obtenidos de la fracción degradable (b) de la FDN en alpacas, muestran que no existe diferencia entre la avena madura y la joven, la razón para este resultado es que la fracción degradable (b) es la degradación que sufriría el alimento en el ecosistema ruminal si es que las condiciones presentes y el tiempo de retención en el mismo, no fueran limitantes (Hristov et al., 2019). Quizá en la avena joven este valor se logró en menor tiempo y en la avena madura se logró a las 72 h, ya que los tiempos recomendados para obtener la degradabilidad potencial van a ser diferentes de acuerdo a la calidad del forraje evaluado. en el presente estudio se evaluó hasta las 72 h que es el tiempo recomendado para determinar la degradabilidad potencial en forrajes de baja calidad (Oskov, 2000).

4.2.5 Parámetros de la degradabilidad *in situ* de la proteína cruda

En el Cuadro 9, se presentan los parámetros de degradabilidad de la PC de los forrajes evaluados, no se observó diferencia en la fracción soluble (a) por efecto de la edad del forraje ($P < 0.18$) ni la especie animal ($P < 0.87$). La fracción degradable (b) fue mayor ($P < 0.01$) en el forraje joven y no se hallaron diferencias ($P < 0.61$) entre especies. La tasa de degradación (c) no presentó diferencias por efecto del tiempo de crecimiento del forraje ($P < 0.09$) ni la especie animal ($P < 0.053$).

Cuadro 9: Parámetros de degradabilidad de la proteína cruda

	Alpaca		Ovino		CME	Contraste		
	Avena joven	Avena madura	Avena joven	Avena madura		Tiempo de crecimiento	Especie	E x Es*
a (porcentaje)	24.1	28.2	24.10	27.3	18.86	0.18	0.87	0.86
b (porcentaje)	61.4	30.2	59.60	27.4	55.79	<0.01	0.61	0.91
c (h ⁻¹)	0.07	0.10	0.06	0.06	0.0003	0.09	0.053	0.21

*Interacción tiempo y especie.

La mayor fracción degradable (b) de la PC en la avena joven, se debió a que la PC degradable en el rumen o en el C1 decrece con la madurez de las plantas (Forages, 2020), incrementándose el contenido de proteínas insolubles (Flint y Forsberg, 1995) en los forrajes maduros (Cassida et al., 2000). La PC es un componente menor en forrajes de mayor edad (Mangan, 1982) ya que las proteínas en las paredes celulares de las gramíneas son componentes menores que comprenden principalmente glicoproteínas estructurales, predominantemente ricas en treonina-hidroxiprolina, y algunas proteínas no estructurales, principalmente enzimas (Carpita, 1996).

La degradación de la PC del alimento en alpacas y ovinos, tanto en el C1 y rumen, es el resultado de la actividad metabólica de las bacterias con actividad proteolítica (Bach et al., 2005) y de los protozoarios (Krause et al., 2012). Los resultados observados no mostraron diferencias sobre la degradación de la PC entre alpacas y ovinos, sin embargo, las bacterias presentes en el C1 de las alpacas son diferentes a las de los ovinos (Pei et al., 2010; Pei et al., 2013) y la cantidad de protozoarios en el C1 de alpacas es menor a la del rumen de ovinos (Yauri, 2020), pero estas diferencias no se tradujeron en diferencias en la degradación de la PC debido a que la mayoría de bacterias presentes en el C1 y en el rumen presentan, en mayor o menor grado, similar actividad proteolítica.

Los resultados obtenidos para los diferentes parámetros de degradabilidad de la PC coinciden con la información disponible que menciona que la degradación de la PC del alimento por los CSA es similar al de los ovinos y cabras (Jouany et al., 1995). Se debe tomar en cuenta que la degradación de la PC es rápida y aspectos como el tamaño de partícula y cantidad de alimento que afectan el tiempo de retención del alimento pueden afectar el grado de la degradación de la PC (Hristov et al., 2019), sin embargo, estos aspectos fueron controlados y solo se evaluó la especie animal y el grado de madurez de la avena.

La maduración de los forrajes tiene un gran efecto sobre los parámetros de la cinética de la degradación (Hoffman et al., 1993), las fracciones a y c de la materia seca, b y c del FDN y b de la PC fueron mayores en el cultivo menos maduro (Foster et al., 2012), estando estos parámetros afectados por las características intrínsecas del forraje (Sun et al., 2010).

Los resultados de los parámetros de la cinética de la digestión para la MS y PC obtenidos en alpacas fueron similares a la información existente para alpacas con pajas de quinua, amaranto y cebada (Nilsen et al., 2015), heno de alfalfa, avena, grass (Stevens et al., 2014);

respecto a los parámetros de la FDN la información existente para la degradabilidad inicial fue muy superior a nuestros resultados en los forrajes evaluados. Se debe tener en cuenta que para degradar la FDN es necesario contar con las enzimas que puedan actuar sobre estos y la degradabilidad inicial es básicamente el contacto del pasto con agua corriente, por ello nuestros resultados.

La ventaja de la técnica de la digestibilidad *in situ* es que involucra al proceso digestivo que ocurre en el rumen de un animal vivo, sin embargo, para su uso correcto es necesario controlar algunos aspectos, como la porosidad de la bolsa, la asociación del peso de la muestra a analizar y el área superficial de la bolsa, el tamaño de partícula, el método de colocación de las bolsas, la dieta del animal, la frecuencia de la alimentación (Hristov et al., 2019), para el desarrollo de este estudio se trató de controlar todos estos aspectos a fin de poder considerar que las diferencias encontradas fueron producto de las especies y la edad del forraje evaluado.

4.3 Ensayo III: Ritmo circadiano de urea en sangre y saliva en alpacas y ovinos recibiendo dietas con diferentes niveles de proteína

Los resultados obtenidos durante el periodo experimental expresan ritmo circadiano ($P < 0.05$) en todos los individuos evaluados, tanto para los niveles de urea en suero como en saliva en alpacas y ovinos a ambos niveles de PC (Figuras 3 y 4). El nivel de urea en suero y en saliva fueron más altos durante el día y más bajos durante la noche. El presente estudio sobre patrón circadiano para urea en suero y en saliva en alpacas coincide con la información existente en ovinos (Piccione et al., 2006).

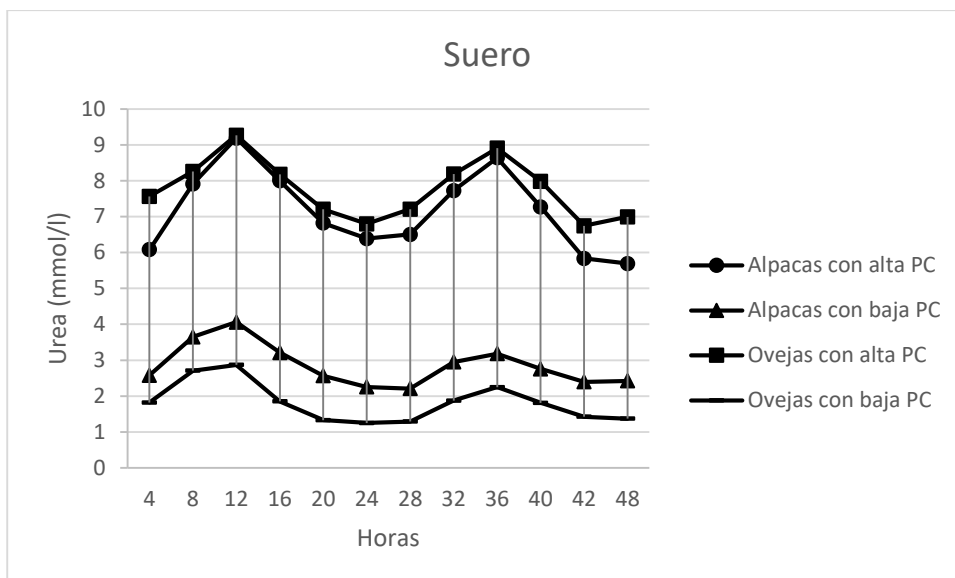


Figura 6: Ritmo circadiano de urea en suero en alpacas y ovinos a diferentes niveles de proteína cruda en la dieta

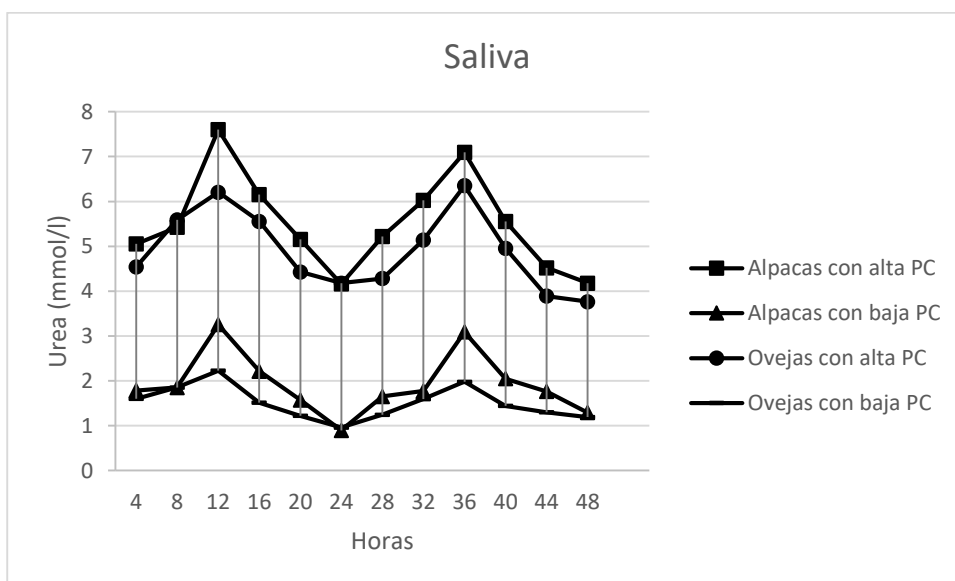


Figura 7. Ritmo circadiano de urea en saliva en alpacas y ovinos a diferentes niveles de proteína cruda en la dieta

La alpaca es una especie que evolucionó en la zona andina de Sudamérica, mientras las ovinos fueron introducidas a esta zona. En ovinos, el ciclo circadiano ha sido estudiado para diversos metabolitos (Piccione et al., 2005), sin embargo, la información sobre el ciclo

circadiano en alpacas es inexistente, siendo este el primer reporte sobre la variación de los niveles de urea en suero y en saliva de esta especie.

En el Cuadro 10, se presentan los parámetros del modelo de análisis Cosinor durante 24 h, tanto de urea en suero como en saliva. Para los niveles de urea en suero, el MESOR fue mayor ($P < 0.05$) en alpacas con dietas bajas en PC, mientras que en dietas altas en PC el MESOR fue igual ($P > 0.05$) en ovinos y alpacas. En ambas especies la amplitud fue mayor ($P < 0.05$) en dietas altas en PC la acrofase no sufrió variación ($P > 0.05$) tanto por el factor especie como por el nivel de PC de la dieta.

Cuadro 10: Parámetros del modelo Cosinor en alpacas y ovinos a dos niveles de proteína cruda en la dieta

Especie	Alpaca		Ovino		CME*	Contraste (P>F)		
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		E	PC	E*PC
SUERO								
MESOR	7.17a	2.85b	7.78a	1.82c	0.56	0.53	<0.01	0.03
Amplitud	1.44	0.69	1.10	0.64	0.08	0.14	<0.01	0.25
Acrofase (h)	11.52	11.25	11.33	10.59	0.79	0.37	0.22	0.90
SALIVA								
MESOR	5.04	1.93	4.90	1.51	0.35	0.31	<0.01	0.59
Amplitud	1.51	0.81	1.14	0.47	0.12	0.03	<0.01	0.93
Acrofase (h)	12.03	12.16	11.37	11.10	1.01	0.11	0.81	0.46

*CME: cuadrado medio del error, E: ovino, alpaca, PC: nivel de proteína cruda, E*PC: interacción especie y nivel de proteína cruda.

El MESOR de los niveles de urea en saliva fue mayor ($P < 0.05$) al mayor nivel de PC en la dieta, no existiendo diferencias entre alpacas y ovinos ($P > 0.05$), La amplitud fue mayor ($P < 0.05$) en alpacas que en ovinos y con el alto nivel de PC en la dieta. La acrofase no fue diferente ($P > 0.05$) entre especie y contenido de PC en la dieta.

La interacción de la especie y nivel de proteína para el MESOR del NUS muestra que las alpacas presentan niveles superiores de urea en suero que los ovinos cuando consumen alimento con bajo contenido de PC y esta diferencia desaparece cuando se incrementan los

niveles de PC del alimento. Al respecto, la información disponible menciona que las alpacas presentan características particulares frente a los ovinos, una de éstas es su mayor eficiencia en el uso de alimentos de baja calidad nutricional (San Martín & Bryant, 1989); ello se asume que es debido a la menor excreción de urea en la orina (Hinderer & Engelhardt, 1975), una mayor capacidad para recuperar N, en forma de urea, ya sea a través de la saliva o de las paredes del compartimiento 1 (Jouany et al., 2000; Lemosquet et al., 1996) y una superior actividad de la enzima ureasa (Mousa et al., 1994).

La concentración de urea en sangre y saliva, en ambas especies, se incrementan durante la fase de luz con acrofase entre 3 a 4 h después de recibir el alimento. Así, se observó los mayores niveles durante la fase de luz y los mínimos niveles durante la noche. Este mismo patrón fue observado en ovinos (Piccione et al., 2006) y cabras tibetanas bajo condiciones naturales de fotoperiodo y alimentación (Piccione et al., 2003). Al respecto, se menciona que la ciclicidad de la urea, tanto en sangre como en saliva, tiene una respuesta exógena (Piccione et al., 2003), respondiendo fuertemente al consumo de alimento de la mañana que incrementa rápidamente el amonio ruminal y la síntesis de urea hepática dando lugar a urea en sangre (Gustafsson y Palmquist, 1993).

La presencia de un patrón circadiano con una acrofase diurna tanto en saliva y en suero para los parámetros estudiados sugiere que la alimentación actúa como un sincronizador externo para estos ritmos, esta respuesta exógena de los niveles de urea en sangre y en saliva, fue demostrada cambiándose el momento de alimentación, lo que provocó que el ritmo de secreción de urea también cambiara y este desaparece si los animales se mantienen en ayunas (Piccione et al., 2003) o se realiza una alimentación más frecuente (Folman et al., 1981). Esta respuesta va asociada al ritmo diurno de fermentación ruminal que está relacionado con la población microbiana y su actividad (Michaowski, 1975) teniendo su pico durante el día y un punto mínimo durante la noche.

En ambas especies existió asociación positiva ($p < 0.05$) entre los niveles de urea en sangre y saliva (Figura 8).

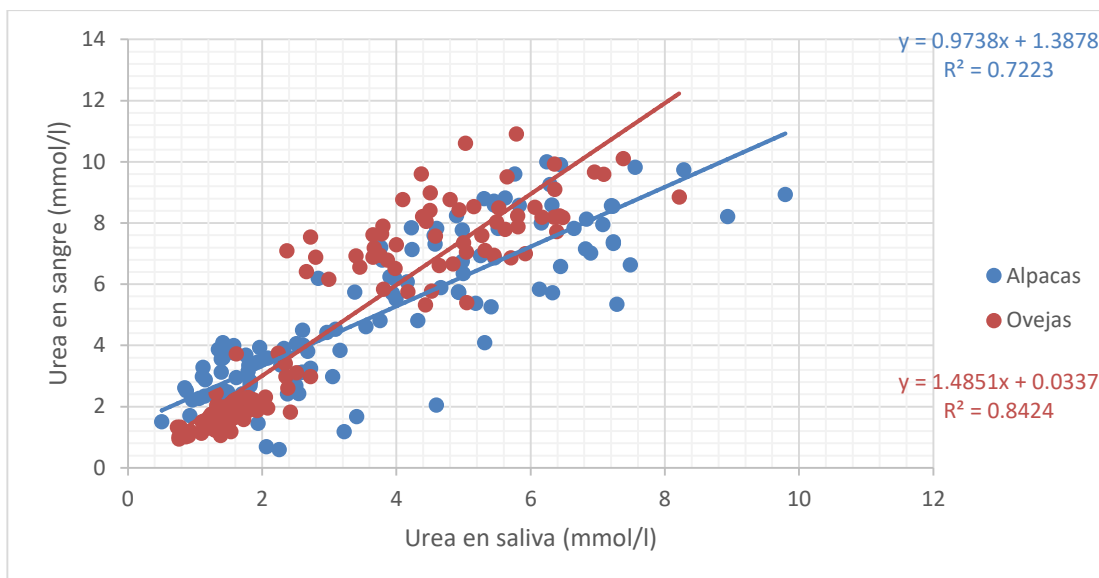


Figura 8: Urea en sangre y saliva en alpacas y ovinos

La asociación observada entre los niveles de urea en sangre y en saliva tanto en alpacas como en ovinos, coincide con lo reportado en ovinos (Cirio et al., 2000) y cabras (Piccione et al., 2003). El hecho que el ritmo circadiano de urea en sangre y en saliva sean similares en ambas especies permite que pueda monitorearse la urea en saliva para evaluar la utilización de nitrógeno. Por esta razón, el diagnóstico salival se está utilizando en medicina interna, endocrinología, inmunología, patología clínica y medicina deportiva (Lac, 2001). Esto se debe principalmente a que el muestreo de saliva no es invasivo y puede realizarse bajo circunstancias en que la colección de sangre es difícil o no aconsejable.

4.4 Discusión general

La comparación en el uso del N entre alpacas y ovinos tanto a nivel digestivo como el balance de N permitió obtener algunas explicaciones de los posibles mecanismos involucrados en el uso del N en estas dos especies.

En general, la eficiencia en el uso del N por los rumiantes es baja en comparación a los monogástricos (Van der Hoek, 1998). Los estudios sobre el uso de N por los rumiantes han sido desarrollados principalmente enfocados en la evaluación del balance del N (Zhou et al., 2015), la degradación del N en el tracto gastrointestinal (Hristov et al., 2019) y la eficiencia de su uso medida a través del NUS (nitrógeno ureico sanguíneo) (Kohn et al., 2005). La información disponible menciona que las alpacas tienen una eficiencia superior en el uso del N que los rumiantes (San Martín y Bryant, 1989) sin sugerirse posible explicación para ello.

Los ensayos realizados compararon la eficiencia en el uso del N entre alpacas y ovinos, para ello, se utilizaron alimentos con contenido promedio de N similar al de las pasturas andinas a lo largo del año. Producto de estas evaluaciones encontramos mayor eficiencia en el uso del N, en alpacas en comparación a los ovinos, la explicación puede estar asociada al menor consumo de alimento en alpacas frente a los ovinos, y por lo tanto de N, en función del nivel de N en el alimento aun consumiendo alimentos con similar contenido de FDN. Este menor consumo de alimento de alpacas *versus* ovinos puede estar asociado a un mayor tiempo de retención del alimento en el tracto digestivo de la alpaca (San Martín y Bryant, 1989), tal como es reportado en otras especies (Doreau et al., 2004). Este menor consumo de alimento influye decididamente sobre la eficiencia alimenticia y como lo demuestra este ensayo también sobre el uso de N ya que un animal que consume menos alimento presenta mayor eficiencia en el uso del alimento ya que la disminución del consumo de alimento generalmente resulta en un incremento en la digestibilidad (Doreau et al., 2004).

La relación inversa entre digestibilidad y consumo de alimento es consecuencia de las modificaciones en la digestión ruminal (Michalet-Doreau et al., 1997), siendo que ello depende tanto de la actividad microbiana como del tiempo de contacto entre los microbios y el alimento. Una disminución en el consumo resulta en una más eficiente masticación (Aitchison et al., 1986), disminuyendo el tamaño de partícula del alimento e incrementándose la superficie de ataque y la alteración de la estructura del alimento por la masticación. Otro aspecto a tomar en cuenta es que cuando el consumo de alimento disminuye, el pH del líquido ruminal sufre un moderado incremento (Zhao et al., 1993) o permanece constante (Djajanegara y Doyle, 1989); todas las características mencionadas previamente han sido descritas en alpacas (San Martín y Bryant, 1989), ovejas y cabras (Doreau et al., 2004) y pudieron haber contribuido a la mayor eficiencia en el uso del N por las alpacas.

Las alpacas presentaron mayores tasas de degradación potencial de la MS y la fibra cruda con alimentos de baja calidad que los ovinos; sin embargo, estas diferencias no se observaron para el N. Debe tomarse en cuenta, sin embargo, se asumió similares tiempos de retención para dicha estimación tanto en alpacas como en ovinos, debido a que la técnica utilizada no toma en cuenta la tasa de pasaje o retención del alimento en el tracto digestivo.

El NUS tiene una relación directa con el consumo de N (Kohn et al., 2005), sin embargo, los resultados obtenidos muestran que las alpacas tienen mayores niveles de NUS que los ovinos

cuando el consumo de N es bajo en el alimento. La interrogante que surge es como las alpacas que consumen menor cantidad de alimento y por ende de N y presentan similar tasa de degradación del N a nivel digestivo que los ovinos presentan mayores niveles de NUS. La explicación que podemos sugerir al mayor nivel de NUS en alpacas es que este no es de origen alimenticio, ya que consumen menos N y este se degrada de forma similar en ovinos. Una característica particular de las alpacas es que cuando son alimentados con bajos contenidos de N se produce un mayor reciclaje de urea (Hintz et al., 1973) el mismo que regresa al compartimiento 1 para ser utilizado por los microorganismos para la síntesis de proteína microbiana. Sin embargo, el reciclaje de N disminuye dramáticamente al consumir alimentos de alta calidad y no tiene necesidad de una mayor recuperación de N.

Los mecanismos involucrados en el mayor reciclaje de N por parte de las alpacas son desconocidos. La información disponible en ovejas, cabras y vacas muestra que con alimentos de bajo contenido de N existe una mayor expresión de los transportadores de urea en el tracto digestivo (Yu et al., 2019) y en los riñones (Artagaveytia et al., 2005), que permite a los animales poder recuperar urea y hacerla regresar al tracto digestivo para ser utilizado por los microorganismos. Sin embargo, en alpacas no existe información sobre los transportadores de urea ni sobre su expresión pudiendo ser estos mismos mecanismos, pero en grado diferenciado.

Por cientos de años, las alpacas se adaptaron a las condiciones medioambientales de la zona altoandina. Asimismo, estas han sobrevivido las difíciles condiciones ambientales de la zona altoandina. Al respecto, una de las condiciones a las que se adaptaron las alpacas es la calidad de las pasturas que tienen un alto contenido de fibra y bajo contenido de N, por ello solo se observa diferencias en el uso del N al compararse con ovinos cuando se suministró alimentos de pobre calidad.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se desarrolló el presente estudio se concluye:

1. La digestibilidad del nitrógeno es similar entre alpacas y ovinos incrementándose de acuerdo al nivel de nitrógeno en la dieta. Las alpacas presentan mayor eficiencia en la retención del nitrógeno consumido que los ovinos.
2. Las alpacas, para avena madura, tienen mayor degradabilidad potencial (b) de la materia seca y la fibra detergente neutro, y similar fracción soluble (a) y velocidad de degradación (c) que los ovinos. En ambas especies la degradabilidad potencial (b) y velocidad de degradación (c) para la avena joven de la materia seca y fibra detergente neutro son similares
3. Las alpacas y ovinos, para avena joven y madura, no presentan diferencias en la fracción soluble (a), la degradabilidad potencial (b) y velocidad de degradación (c) de la proteína cruda. En ambas especies la degradabilidad potencial (b) de la proteína cruda es mayor en avena joven comparada con la avena madura.
4. La urea en suero y saliva en alpacas y ovinos presentan ciclo circadiano y éstos se ven influenciados por el nivel de proteína cruda en la dieta, siendo el ritmo medio ajustado de la urea en sangre superior en ambas especies a mayor nivel de proteína cruda e inferior en ovejas a bajo nivel de proteína cruda.

VI. RECOMENDACIONES

- 5.1. Evaluar las características del compartimiento 1 en comparación al rumen para los metabolitos nitrogenados.
- 5.2. Comparar la producción de proteína microbiana entre alpacas y ovinos
- 5.3. Evaluar la expresión de los transportadores de urea en los compartimientos 1 y 2 a diferentes niveles de nitrógeno.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A.M., Engelhardt W.V., Lechner Doll M., Luciano L., & Mousa H.M. (1995). Reale E. Particularities in forestomach anatomy, physiology and biochemistry of camelids compared to ruminants. In: Tisserand J.-L. (ed.). *Elevage et alimentation du dromadaire*. Zaragoza: CIHEAM, p. 19-32 (Options Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches; n. 13).
- Alexander, H., & McGowan, M. (1966). The routine determination of *in vitro* digestibility of organic matter in forages. An investigation of the problems associated with continuous large-scale operation. *J Br Grassl. Soc.* 21: 140-147.
- Annisson, E. F., & Bryden, W. L. (2005). Perspectives on ruminant nutrition and metabolism I. Metabolism in the Rumen. *Nutrition Research Reviews*, 11(02), 173. <https://doi.org/10.1079/nrr19980014>
- Arias, J., & Nesti, A. (1999). Importancia de los niveles de Nitrógeno Ureico en leche y sangre en el ganado lechero. *Revista de La Facultad de Agronomía. (LUZ)*, 16, 553–561.
- Assenza, A., Fazio, F., Marcenò, G., Piccione, G., & Caola, G. (2009). Daily rhythms of serum and salivary parameters in goats. *Australian Veterinary Journal*, 87(10), 397–401. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2009.00480.x>
- Assoumani, M. B., Vedeau, F., Jacquot, L., & Sniffen, C. J. (1992). Refinement of an enzymatic method for estimating the theoretical degradability of proteins in feedstuffs for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 39(3–4), 357–368. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(92\)90054-A](https://doi.org/10.1016/0377-8401(92)90054-A)
- Bach, A., & Calsamiglia, S. (2005). Nitrogen Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Science*, 88(5), E9–E21. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(84\)81409-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(84)81409-5)
- Baker, L. D., Ferguson, J. D., & Chalupa, W. (1995). Responses in Urea and True Protein of Milk to Different Protein Feeding Schemes for Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 78(11), 2424–2434. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76871-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76871-0)
- Bergen, W. G. (2007). Contribution of research with farm animals to protein metabolism concepts: A historical perspective. *Journal of Nutrition*, 137(3), 706–710.

<https://doi.org/10.1093/jn/137.3.706>

- Bertolucci, C., Cavallari, N., Colognesi, I., Aguzzi, J., Chen, Z., Caruso, P., Foá, A., Tosini, G., Bernardi, F., & Pinotti, M. (2008). Evidence for an overlapping role of CLOCK and NPAS2 transcription factors in liver circadian oscillators. *Mol Cell Biol.* 28:3070–5.
- Brock, F., M., Forsberg, C. W., & Buchanan-Smith, J. G. (1982). Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(3), 561–569. <https://doi.org/10.1128/aem.44.3.561-569.1982>
- Broderick, G. A. 1996. Conference: Altering Ruminant Nitrogen Metabolism to Improve Protein Utilization. *J. Nutr.*, 126: 4 Suppl 1324S-1325S. http://jn.nutrition.org/citmgr?gca=nutrition%3B126%2F4_Suppl%2F1324S%5Cnhttp://jn.nutrition.org/content/126/4_Suppl/1324S.full.pdf+html?sid=66c0bf2d-8e15-4b61-a015-9a459ef97bec
- Bunting, L.D., Boling, J.A., & MacKown, C.T. (1989). Effect of dietary protein level on nitrogen metabolism in the growing bovine. I. Nitrogen recycling and intestinal protein supply in calves. *Journal of Animal Science* 67, 810–819.
- Cassida, K. A., Griffin, T. S., Rodriguez, J., Patching, S. C., Hesterman, O. B., & Rust, S. R. (2000). Protein degradability and forage quality in maturing alfalfa, red clover, and birdsfoot trefoil. *Crop Sci.*, 40 (1): 209-215
- Chen, G., Sniffen, C.J., & Russell, J.B. (1987). Concentration and estimated flow of peptides from the rumen of dairy cattle: effects of protein quantity, protein solubility and feeding frequency. *Journal of Dairy Science* 70, 983–992.
- Cochran R.C., & Galyean L. (1994). Measurement of in vivo forage digestion by ruminants,” in *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, John Wiley & Sons, Ltd, 1994, pp. 115–154. doi:10.2134/1994.foragequality.c3.
- Conrad, H.R., Baile, C.A., & Mayer, J. (1977). Changing meal patterns and suppression of feed intake with increasing amounts of dietary nonprotein nitrogen in ruminants. *Journal of Dairy Science* 60, 1725–1733.
- Cummings, J. F., Munnell, J. F., & Vallenias, A. (1972). The mucigenous glandular mucosa in the

complex stomach of two new-world camelids, the llama and guanaco. *Journal of Morphology*, 137(1), 71–109. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051370106>

Davies, H. L., Robinson, T. F., Roeder, B. L., Sharp, M. E., Johnston, N. P., & Christensen, A. C. (2007). Plasma metabolites and nitrogen balance in Lama glama associated with forage quality at altitude. *Small Ruminant Research*, 69(1–3), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.11.016>

Dennis, SM., Nagaraja, TG., & Bartley, EE. (1981). Effects of lasalocid or monensin on lactate-producing or-using rumen bacteria. *J. Anim. Sci.* 52: 418-426.

Dijkstra, J., Bannink, A., Bosma, P. M., Lantinga, E. A., & Reijs, J. W. (2018). Modeling the Effect of Nutritional Strategies for Dairy Cows on the Composition of Excreta Nitrogen. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2(October), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00063>

Eckerlin, R. H., & Stevens, C. E. (1973). Bicarbonate secretion by the glandular sacculles of the llama stomach. *CORNELL VET.*, 63(3), 436–445.

Faverdin, P. (1999). The effect of nutrients on feed intake in ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society* 58, 523–531.

FAO. (2005). Situación Actual De Los Camélidos Sudamericanos En Perú. *Fao, Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo de la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la*, 1–62. https://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/zootecnia_archivos/situacion_alpcas_peru.pdf

Fawcett, J. K., & Scott, J. E. (1960). A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*, 13, 156–159. <https://doi.org/10.1136/jcp.13.2.156>

Firkins, J. L., Yu, Z., & Morrison, M. (2010). Ruminant Nitrogen Metabolism: Perspectives for Integration of Microbiology and Nutrition for Dairy. *Journal of Dairy Science*, 90, E1–E16. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-518>

Florez, J. A. (1973). Velocidad de pasaje de la ingesta y digestibilidad en alpacas y ovinos. Tesis. Prog. Acad. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

- Flint, H. J., & Forsberg, C. W. (1995). Polysaccharide degradation in the rumen: biochemistry and genetics. In *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism Growth and Reproduction*, pp. 43-63 [W. V. Engelhardt, S. Leonhard-Marek, G. Breves and D. Giesecke, editors]. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag.
- Folman, Y., Neumark, H., Kaim, M., & Kaufmann, W. (1981). Performance, Rumen and Blood Metabolites in High-Yielding Cows Fed Varying Protein Percents and Protected Soybean. *Journal of Dairy Science*, 64(5), 759–768. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82645-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82645-8)
- Fowler, M.E. (2010). *Medicine and surgery of South American camelids: Llama, alpaca, vicuna, guanaco*. Iowa State University Press, Iowa.
- Furukawa, T., Manabe, S., Watanabe, T., Sehata, S., Sharyo, S., Okada, T., & Mori, Y. (1999). Daily fluctuation of hepatic P450 monooxygenase activities in male rats is controlled by the suprachiasmatic nucleus but remains unaffected by adrenal hormones. *Archives of Toxicology*, 73(7), 367–372. <https://doi.org/10.1007/s002040050675>
- Garnsworthy, P.C., & Jones, G.P. (1987). The influence of body condition at calving and dietary protein supply on voluntary food intake and performance in dairy cows. *Animal Production* 44, 347–353.
- Goering, H.K., & Van Soest P.J. (1970). *Forage fiber analysis*. Washington DC: USDA Agricultural Handbook. 379 p.
- Gregory, P. C., Heller, R., & Engelhardt, W.v. (1985). Control of stomach motility in the llama (*Lama Guanacoe F. glama*). *Experimental Physiology*, 51–61.
- Griswold, K., White, B., & Mackie, R. (1999). Proteolytic Activities of the Starch-Fermenting Ruminant Bacterium, *Streptococcus bovis*. *Curr Microbiol* 39, 180–186. <https://doi.org/10.1007/s002849900442>
- Gustafsson, A. H., & Palmquist, D. L. (1993). Diurnal Variation of Rumen Ammonia, Serum Urea, and Milk Urea in Dairy Cows at High and Low Yields. *Journal of Dairy Science*, 76(2), 475–484. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(93\)77368-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(93)77368-3)

- Haliburton, J.C., & Morgan, S.E. (1989). Nonprotein nitrogen-induced ammonia toxicosis and ammoniated feed toxicity syndrome. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 5(2):237-49. doi: 10.1016/s0749-0720(15)30974-9. PMID: 2667705.
- Hess, H.D., Lascano, C.E., & Flórez, H. (2000). Blood and Milk Urea Nitrogen as a Tool to Monitor the Protein Nutrition of Cattle under Tropical Conditions. *Deutcher Tropentag*, 1–6.
- Hinderer, S., & Engelhardt, W.v. (1975). Urea metabolism in the llama. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 52(4), 619–622. [https://doi.org/10.1016/S0300-9629\(75\)80012-0](https://doi.org/10.1016/S0300-9629(75)80012-0)
- Hristov, A. N. (2011). Technical note: Contribution of ammonia emitted from livestock to atmospheric fine particulate matter (PM_{2.5}) in the United States. *Journal of Dairy Science*, 94(6), 3130–3136. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3681>
- Hristov, A.N., Bannink, A., Crompton, L.A., Huhtanen, P., Kreuzer, M., McGee, M., Nozière, P., Reynolds, C. K., Bayat, A.R.; Yáñez-Ruiz, D.R., Dijkstra, J., Kebreab, E., Schwarm, A., Shingfield, K. J., & Yu, Z. (2019). Invited review: Nitrogen in ruminant nutrition: A review of measurement techniques. *Journal of Dairy Science*, 102(7), 5811–5852. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15829>
- Hristov, A. N., & Jouany. (2005). Factors affecting the efficiency of nitrogen utilization in the rumen. In: A. N. Hristov and E. Pfeffer, editors, Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle and environment. CAB Int., Wallingford, UK. p. 117–166.
- Huamán, M., Olazábal-Loaiza, J., & San Martín, F. (2023). Crude protein level of the diet on blood urea nitrogen in alpaca and sheep. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 34(1), 1–7. <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V34I1.24617>
- Huwasquiche, A. (1974). Balance del nitrógeno y digestibilidad en alpacas y ovinos. *Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima*, 49.
- Huhtanen, P., & Hristov, A. N. (2009). A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk n efficiency in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92(7), 3222–3232. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1352>
- Hungate, R. E. (1966). *The Rumen and Its Microbes*. ACADEMIC PRESS INC.

<https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1968.tb04952.x>

- Huntington, G. B., & Archibeque, S. L. (2016). Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. *Journal of Animal Science*, 77(E-Suppl), 1. <https://doi.org/10.2527/jas2000.77e-suppl1y>
- Huntington, J. A., & Givens, D. I. (1999). Studies on in situ degradation of feeds in the rumen: 2. The effect of bag numbers incubated and post-incubation processing of residues. *Animal Feed Science and Technology*, 68(1–2), 115–129. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00034-5)
- INEI. (2013). IV Censo Nacional Agropecuario 2012 (IV CENAGRO). *Articulo*, 1–93.
- Jenkins, D. M., Delwiche, M. J., Depeters, E. J., & Bondurant, R. H. (2010). Chemical Assay of Urea for Automated Sensing in Milk. *Journal of Dairy Science*, 82(9), 1999–2004. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75436-6](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75436-6)
- Jouany, J. P. (2000). La digestion chez les camélidés ; comparaison avec les ruminants. *Productions Animales*, 13(3), 165–176. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2000.13.3.3778>
- Jouany, J. P., Michalet-Doreau, B., & Doreau, M. (2000). Manipulation of the Rumen Ecosystem to Support High-Performance Beef Cattle - Review -. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13(1), 96–114. <https://doi.org/10.5713/ajas.2000.96>
- Kadwell, M., Fernandez, M., Stanley, H. F., Baldi, R., Wheeler, J. C., Rosadio, R., & Bruford, M. W. (2001). Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 268(1485), 2575–2584. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1774>
- Kaufmann, W., & Lüpping, W. (1982). Protected proteins and protected amino acids for ruminants. In: Protein contribution and effects for ruminants. pp. 36-75. Ed.: E.L. Miller, J.H. Pike and A.J.H. Van Es. Butterworths, London.
- Kennedy, P. M., & Milligan, L. P. (1980). The Degradation and Utilization of Endogenous Urea in the Gastrointestinal Tract of Ruminants: a Review. *Canadian Journal of Animal Science*, 60(2), 205–221. <https://doi.org/10.4141/cjas80-030>

- Kiani, A., Alstrup, L., & Nielsen, M. O. (2015). Differential metabolic and endocrine adaptations in llamas, sheep, and goats fed high- and low-protein grass-based diets. *Domestic Animal Endocrinology*, 53(April), 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2015.03.006>
- Kohn, R. A., Dinneen, M. M., & Russek-Cohen, E. (2005). utilization in cattle, sheep , goats , horses , pigs , and rats The online version of this article , along with updated information and services , is located on the World Wide Web at : Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficienc. *Journal of Animal Science*, 83, 879–889. <http://www.journalofanimalscience.org/content/83/4/879>
- Krause, D. O., Nagaraja, T. G., Wright, A. D. G., & Callaway, T. R. (2012). Rumen microbiology: Leading the way in microbial ecology. *Journal of Animal Science*, 91, 331–341. <https://doi.org/10.2527/jas2012-5567>
- Külling, D. R., Menzi, H., Kröber, T. F., Neftel, A., Sutter, F., Lischer, P., & Kreuzer, M. (2001). Emissions of ammonia, nitrous oxide and methane from different types of dairy manure during storage as affected by dietary protein content. *Journal of Agricultural Science*, 137(2), 235–250. <https://doi.org/10.1017/s0021859601001186>
- Lac, G. (2001). Saliva assays in clinical and research biology. *Pathologie Biologie*, 49(8), 660–667. [https://doi.org/10.1016/s0369-8114\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/s0369-8114(01)00228-0)
- Lapierre, H., & Lobley, G. E. (2010). Nitrogen Recycling in the Ruminant: A Review. *Journal of Dairy Science*, 84, E223–E236. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(01\)70222-6](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(01)70222-6)
- Lee, S. S., Ha, J. K., & Cheng, K. J. (2000). Influence of an anaerobic fungal culture administration on in vivo ruminal fermentation and nutrient digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 88(3–4), 201–217. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(00\)00216-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00216-9)
- Lefcourt, A. M., Huntington, J. B., Akers, R. M., Wood, D. L., & Bitman, J. (1999). Circadian and ultradian rhythms of body temperature and peripheral concentrations of insulin and nitrogen in lactating dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 16(1), 41–55. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(98\)00047-2](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(98)00047-2)
- Lemosquet, S., Dardillat, C., Jailler, M., & Dulphy, J. P. (1996). Voluntary intake and gastric digestion of two hays by llamas and sheep: Influence of concentrate supplementation.

Journal of Agricultural Science, 127(4), 539–548.
<https://doi.org/10.1017/s0021859600078771>

Leng, R. A., & Nolan, J. V. (2010). Nitrogen Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Science*, 67(5), 1072–1089. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(84\)81409-5](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(84)81409-5)

Lesk, E. M., & Blackburn, T. H. (1971). Purification of *Bacteroides amylophilus* protease. *Journal of Bacteriology*, 106(2), 394–402. <https://doi.org/10.1128/jb.106.2.394-402.1971>

Lockwood, B. C., Coombs, G. H., & Williams, A. G. (1988). Proteinase activity in rumen ciliate protozoa. *Journal of General Microbiology*, 134(9), 2605–2614. <https://doi.org/10.1099/00221287-134-9-2605>

Mangan, J.L. (1982). The nitrogenous constituents of fresh forages. In: Thomson DJ, Beaver DE, Gunn RG, editors. Forage protein in ruminant animal production: proceedings of a symposium organized jointly by the British Society of Animal Production and the British Grassland Society and held at the University of Leeds in September. British Society of Animal, Production, Thames Ditton [Surrey]; pp. 25–40.

Marini, J. C., Fox, D. G., & Murphy, M. R. (2008). Nitrogen transactions along the gastrointestinal tract of cattle: A meta-analytical approach. *Journal of Animal Science*, 86(3), 660–679. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0039>

Marini, J. C., Klein, J. D., Sands, J. M., & Van Amburgh, M. E.. (2004). Effect of nitrogen intake on nitrogen recycling and urea transporter abundance in lambs. *Journal of Animal Science*, 1157–1164.

Mazzaferro, E., Hackett, T., Wingfield, W., Ogilvie, G., & Fettman, M. (2000). Role of glutamine in health and disease. *Compendium*. 22: 1094-1103.

Mc Donald, P., Edwards, RA., Greenhalgh, JFD., & Morgan, CA. (1999). *Nutrición animal*. 5a ed. Zaragoza: Acribia. 576 p.

Mc Dougall, EI. (1948). Studies on ruminant saliva. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem J*. 43(1): 99-109.

McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeill, D. M., & Krause, D. O. (2001). Microbial interactions with

tannins: Nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1–2), 83–93. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00232-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00232-2)

Menke, K., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J Agric Sci Camb* 93: 217–222.

Merchen, N.R., & Bourquin, L.D. (1994). Processes of digestion and factors influencing digestion of forage-based diets by ruminants. in *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, John Wiley & Sons, Ltd, 1994, pp. 115–154. doi:10.2134/1994.foragequality.c3.

Michaowski, T. (1975). Effect of different diets on the diurnal concentrations of ciliate protozoa in the rumen of water buffalo. *The Journal of Agricultural Science*, 85(1), 145–150. <https://doi.org/10.1017/S002185960005351X>

Moharrerya, A. M., & Das, T. K. D. (2002). Original article Correlation between microbial enzyme activities in the rumen fluid of sheep under different treatments. *Animal Science*, 41(2001), 513–529.

Moore, D. A., & Varga, G. (1996). BUN and MUN: Urea nitrogen testing in dairy cattle. *Comp. Cont. Edu. Pract. Vet.* 18:712–721.

Mountfort, D. O. (1987). The rumen anaerobic fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 46(4), 401–408. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(87\)90045-0](https://doi.org/10.1016/0378-1097(87)90045-0)

Mousa, H. M., Ali, K. E., & Hume, I. D. (1983). Effects of water deprivation on urea metabolism in camels, desert sheep and desert goats fed dry desert grass. In *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology* (Vol. 74, Issue 3, pp. 715–720). [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(83\)90574-1](https://doi.org/10.1016/0300-9629(83)90574-1)

Nagaraja, T. G. (1995). Ionophores and antibiotics in ruminants. Pages 173-204 in *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. R. J. Wallace, and A. Chesson (Eds.). VCH, Germany.

Naguib, F. N. M., Seng-Jaw, S., & El Kouni, M. H. (1993). Circadian rhythm of orotate phosphoribosyltransferase, pyrimidine nucleoside phosphorylases and dihydrouracil dehydrogenase in mouse liver. Possible relevance to chemotherapy with 5-

fluoropyrimidines. *Biochemical Pharmacology*, 45(3), 667–673.
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(93\)90141-I](https://doi.org/10.1016/0006-2952(93)90141-I)

- Nikkhah, A. (2011). Ruminant chronophysiological management: an emerging bioscience. *Open Access Animal Physiology*, 9. <https://doi.org/10.2147/oaap.s24071>
- Nocek, J. E. (1988). *In situ* and Other Methods to Estimate Ruminant Protein and Energy Digestibility: A Review. *Journal of Dairy Science*, 71(8), 2051–2069.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79781-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79781-7)
- NRC. (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. In *The National Academies Press*. <https://doi.org/10.17226/11654>.
- Olmos Colmenero, J. J., & Broderick, G. A. (2006). Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89(5), 1704–1712. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72238-x](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72238-x)
- Oltner, R., & Wiktorsson, H. (1983). Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. *Livestock Production Science*, 10(5), 457–467. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(83\)90073-8](https://doi.org/10.1016/0301-6226(83)90073-8)
- Orpin, C. G. (1984). The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen. *10*, 121–143.
- Orskov, ER. (2000). The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In: Givens, I., Owen, E., Axford, R. F. E. and Omed, H. M. (eds.) *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CAB International, pp. 175-188.
- Orskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499–503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>
- Ortega, ME. (1987). Factores que afectan la digestibilidad del alimento en rumiantes. *Vet Mex* 18(1): 55-60.
- Pasha, M. A., & Newman, J. H. (2010). High-altitude disorders: Pulmonary hypertension - Pulmonary vascular disease: The global perspective. *Chest*, 137(6 SUPPL.), 13S-19S.
<https://doi.org/10.1378/chest.09-2445>

- Patra, A. K., & Aschenbach, J. R. (2018). Ureases in the gastrointestinal tracts of ruminant and monogastric animals and their implication in urea-N/ammonia metabolism: A review. *Journal of Advanced Research*, *13*, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.02.005>
- Pedraza, RM. (2001). Estimación del valor nutritivo de los alimentos para rumiantes con énfasis en las técnicas *in sacco* y de producción de gas *in vitro*. *Rev Prod Anim* *13*: 45-50.
- Pei, C. X., Liu, Q., Dong, C. S., Li, H. Q., Jiang, J. B., & Gao, W. J. (2010). Diversity and abundance of the bacterial 16S rRNA gene sequences in forestomach of alpacas (*Lama pacos*) and sheep (*Ovis aries*). *Anaerobe*, *16*(4), 426–432. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.06.004>
- Pei, C. X., Liu, Q., Dong, C., Li, H., Jiang, J., & Gao, W. (2013). Microbial Community in the Forestomachs of Alpacas (*Lama pacos*) and Sheep (*Ovis aries*). *Journal of Integrative Agriculture*, *12*(2), 314–318. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60230-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60230-0)
- Piccione, G., Caola, G., & Refinetti, R. (2005). Temporal relationships of 21 physiological variables in horse and sheep. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, *142*(4), 389–396. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.07.019>
- Piccione, G., & Caola, G. (2002). Biological rhythm in livestock. In *Journal of veterinary science (Suwon-si, Korea)* (Vol. 3, Issue 3, pp. 145–157). <https://doi.org/10.4142/jvs.2002.3.3.145>
- Piccione, G., Caola, G., & Refinetti, R. (2003). Circadian rhythms of body temperature and liver function in fed and food-deprived goats. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, *134*(3), 563–572. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00362-8](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00362-8)
- Piccione, G., Foà, A., Bertolucci, C., & Caola, G. (2006). Daily rhythm of salivary and serum urea concentration in sheep. *Journal of Circadian Rhythms*, *4*, 2–5. <https://doi.org/10.1186/1740-3391-4-16>
- Piccione, G., Grasso, F., Fazio, F., Assenza, A., & Caola, G. (2007). Influence of different schedules of feeding on daily rhythms of blood urea and ammonia concentration in cows. *Biological Rhythm Research*, *38*(2), 133–139. <https://doi.org/10.1080/09291010600913964>
- Quin, J. I., Van der Wath, J. G., & Myburgh, S. (1938). Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa. IV.--Description of experimental technique. *Onderstepoort Journal*

of Veterinary Science and Animal Industry, 11(2), 341–360.

Rémond, D., Chaise, J. P., Delval, E., & Poncet, C. (1993). Net transfer of urea and ammonia across the ruminal wall of sheep. *Journal of Animal Science*, 71(10), 2785–2792. <https://doi.org/10.2527/1993.71102785x>

Reynolds, C. (2000). Forage evaluation using measurements of energy metabolism. In: Givens, I., Owen, E., Axford, R. F. E. and Omed, H. M. (eds.) *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CAB International, pp. 95-111.

Reynolds, C. K., & Kristensen, N. B. (2008). Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *Journal of Animal Science*, 86(14 Suppl), E293–E305. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0475>

Rúa, M., Olazábal, J., & San Martín, HF. (2017). Excreción de Derivados de Purinas en Función de la Relación Fibra/Proteína en la Dieta de Alpacas (*Vicugna pacos*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 28(1), 62. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i1.12936>

Rubsamen, K., & Engelhardt, v.W. (1978). Bicarbonate secretion and solute absorption in forestomach of the llama. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism and Gastrointestinal Physiology*, 4(1). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1978.235.1.e1>

San Martin, F. (1987). *Comparative Forage Selectivity and Nutrition of South American Camelids and sheep*. Doctoral thesis. Texas Tech University.

San Martin, F., & Bryant, F. C. (1989). Nutrition of domesticated South American llamas and alpacas. *Small Ruminant Research*, 2(3), 191–216. [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(89\)90001-1](https://doi.org/10.1016/0921-4488(89)90001-1)

San Martín, F., & Van Saun, R. J. (2014). Applied Digestive Anatomy and Feeding Behavior. In C. Cebra, David E. Anderson, A. Tibary, R. J. Van Saun, & LaRue W. Johnson (Eds.), *Llama and alpaca care: medicine, surgery, reproduction, nutrition and herd health* (1st ed., pp. 51–58). Elsevier.

Sarraseca, A., Milne, E., Metcalf, M. J., & Lobley, G. E. (2005). Urea recycling in sheep: effects of intake. *British Journal of Nutrition*, 79(01), 79. <https://doi.org/10.1079/bjn19980011>

- Schmidt-Nielsen, K. (1964). *Desert Animals: Physiological problems of heat and water*. Oxford: Clarendon Press. 277 p.
- Schroeder, G. F., & Titgemeyer, E. C. (2008). Interaction between protein and energy supply on protein utilization in growing cattle: A review. *Livestock Science*, *114*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.12.008>
- Schwab, C. G., & Broderick, G. A. (2017). A 100-Year Review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *100*(12), 10094–10112. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13320>
- Schwingel, W. R., & Bates, D. B. (1996). Use of Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis to Measure Degradation of Soluble Soybean Proteins by *Prevotella ruminicola* GA33 or Mixed Ruminant Microbes in Vitro. *Journal of Animal Science*, *74*(2), 475–482. <https://doi.org/10.2527/1996.742475x>
- Segal JP., Tresidder KA., Bhatt C., Gilron I., & Ghasemlou, N. (2018). Circadian control of pain and neuroinflammation. *J. Neurosci. Res* *96*, 1002–1020.
- Sinclair, K. D., Sinclair, L. A., & Robinson, J. J. (2011). Nitrogen metabolism and fertility in cattle : I . Adaptive changes in intake and metabolism to diets differing in their rate of energy and nitrogen release in the rumen The online version of this article , along with updated information and services , is . *Journal of Animal Science*, 2659–2669.
- Sponheimer, M., Robinson, T., Roeder, B., Hammer, J., Ayliffe, L., Passey, B., Cerling, T., Dearing, D., & Ehleringer, J. (2003). Digestion and passage rates of grass hays by llamas, alpacas, goats, rabbits, and horses. *Small Ruminant Research*, *48*(2), 149–154. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00002-6](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00002-6)
- Stevens, N., Robinson, TF., Nilsen, B., & Johnston, NP. (2014). In situ digestion of forages and grains in alpacas fed alfalfa and grass hay. *Journal of Animal Science Advances* *4*, 1038–1044.
- Sun, XZ., Waghorn, GC., & Clark, H. (2010). Cultivar and age of regrowth effects on physical, chemical and in sacco degradation kinetics of vegetative perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Animal Feed Science and Technology* *155*, Issues 2–4,

- Tilley JMA., & Terry RA. (1963). A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J Brit Grassld Soc* 18: 104-111.
- Tománková, O., & Kopečný, J. (1995). Prediction of feed protein degradation in the rumen with bromelain. *Animal Feed Science and Technology*, 53(1), 71–80. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)00735-R](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)00735-R)
- 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(4), 399–423. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051340403>
- Vallenas, A. P., & Stevens, C. E. (1971). Motility of the llama and guanaco stomach. *The American Journal of Physiology*, 220(1), 275–282. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1971.220.1.275>
- Van der Hoek, K. W. (1998). Nitrogen efficiency in global animal production. *Environmental Pollution*, 102, 127–132. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-043201-4.50023-X>
- Van Soest, PJ., Robertson, JB., & Lewis, BA. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74(10):3583- 3597.
- Vanzant, ES., Cochran, RC., & Titgemeyer, EC. (1998). Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *J Anim Sci.* 76(10):2717-29. doi: 10.2527/1998.76102717x.
- Vater, AL., Zandt, E., & Maierl, J. (2021). The topographic and systematic anatomy of the alpaca stomach. *Anat Rec (Hoboken)*. 304(9):1999-2013. doi: 10.1002/ar.24588. Epub 2021 Feb 2. PMID: 33480155.
- Vaze, K.M., & Sharma, V.K. (2013). Circadian rhythms. *Reson* 18, 662–672. <https://doi.org/10.1007/s12045-013-0085-4>
- Velle, W., Sjaastad, V., Aulie, A., Grønset, D., Feigenwinter, K., & Framstad, T. (1997). Rumen Escape and Apparent Degradation of Amino Acids after Individual Intraruminal Administration to Cows. *Journal of Dairy Science*, 80(12), 3325–3332. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76308-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76308-2)

- Visek, W. J. (1984). Ammonia: Its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. *J. Dairy Sci.* 67:481-498.
- Vivar, H., Olazábal, L. J.; & San Martín, H. F. (2019). Comparison of blood urea nitrogen level between weaned alpacas and llamas grazing cultivated pastures. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 30(1), 193–200. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15691>
- Wallace, R. J., & Brammall, M. L. (1985). The role of different species of bacteria in the hydrolysis of protein in the rumen. *Journal of General Microbiology*, 131(4), 821-832. <https://doi.org/10.1099/00221287-131-4-821>
- Wallace, R. J., & McKain, N. (1991). A survey of peptidase activity in rumen bacteria. *Journal of General Microbiology*, 137(9), 2259–2264. <https://doi.org/10.1099/00221287-137-9-2259>
- Wallace, R. J., & Joblin, K. N. (1985). Proteolytic activity of a rumen anaerobic fungus. *FEMS Microbiology Letters*, 29(1–2), 19–25. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1985.tb00828.x>
- Wallace, R. J., McKain, N., Broderick, G. A., Rode, L. M., Walker, N. D., Newbold, C. J., & Kopečný, J. (1997). Peptidases of the rumen bacterium, *Prevotella ruminicola*. *Anaerobe*, 3(1), 35–42. <https://doi.org/10.1006/anae.1996.0065>
- Wallace, R., Newbold, B., Bequette, J., MacRae, J., & Loble, G. E. (2001). Increasing the Flow of Protein from Ruminant Fermentation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 14(6), 885–893.
- Weiss, W. P. (1994). Estimation of digestibility of forages by laboratory methods,” in *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, John Wiley & Sons, Ltd, 1994, pp. 115–154. doi:10.2134/1994.foragequality.c3.
- Woodward, A., & Reed, J. D. (1997). Nitrogen Metabolism of Sheep and Goats Consuming *Acacia brevispica* and *Sesbania sesban*. *Journal of Animal Science*, 75(4), 1130–1139. <https://doi.org/10.2527/1997.7541130x>
- Wu, G. (2019). *Principles of animal nutrition* (1st Edition). 1st edn. CRC Press, Boca Raton, pp 772. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9781315120065>
- Yang, C. M. J., & Russell, J. B. (1992). Resistance of proline-containing peptides to ruminal degradation *in vitro*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(12), 3954–3958.

<https://doi.org/10.1128/aem.58.12.3954-3958.1992>

VIII. ANEXOS

8.1 ANEXO 1: Constancia de autorización del comité de ética y bienestar animal



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Comité de Ética y Bienestar Animal (CEBA)



Constancia de Autorización Ética N°. 2020-5

El Comité de Ética y de Bienestar Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos , expide la presente **Constancia de Autorización Ética** al proyecto *"Uso del nitrógeno en alpacas y ovejas bajo diferentes niveles de proteína en la dieta"* con código *CEBA 2020-5*

Atentamente

Presidente del Comité Ética y Bienestar Animal
FMV-UNMSM